



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Unidad de Posgrado

“Estudio experimental del efecto hipotensor y su posible mecanismo de acción de *Apium graveolens* L. (apio)”

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Farmacología con
mención en Farmacología Experimental

AUTOR

Ernesto Raúl TORRES VÉLIZ

ASESOR

Jorge Luis ARROYO ACEVEDO

Lima, Perú

2000

Referencia bibliográfica

Torres E. Estudio experimental del efecto hipotensor y su posible mecanismo de acción de *Apium graveolens* L. (apio) [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Unidad de Posgrado; 2000.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

UNIDAD DE POSTGRADO



**ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS PARA OPTAR AL GRADO ACADÉMICO
DE MAGISTER EN FARMACOLOGÍA CON MENCIÓN FARMACOLOGÍA
EXPERIMENTAL**

Siendo las 3:00 p.m. del día jueves 28 de diciembre del 2000, en el Salón de Grados y Títulos de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, el Jurado Examinador y Calificador de Tesis, presidida por la Dra. Luz Oyola de Bardales y conformado por los siguientes miembros: Dra. Nancy Lozano Reyes, Dr. Manuel Palomino Yamamoto, Dr. Jorge Arroyo Acevedo (asesor) y Mg. Pablo Bonilla Rivera para la sustentación oral y pública de la Tesis titulada:

"ESTUDIO EXPERIMENTAL DEL EFECTO HIPOTENSOR Y SU POSIBLE MECANISMO DE ACCIÓN DE *Apium graveolens* L. (APIO)", que presentó la Bachiller en Farmacia y Bioquímica

ERNESTO RAÚL TORRES VÉLIZ

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la sustentación de la tesis para obtener el Grado Académico de Magister en Farmacología con mención Farmacología Experimental y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado y practicada la votación, ha obtenido la siguiente calificación:

Muy Buena Diciembre (17)

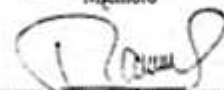
Luego, el presidente del Jurado recomienda que la Facultad proponga se le otorgue el Grado Académico de Magister en Farmacología con mención Farmacología Experimental, al Bachiller en Farmacia y Bioquímica **ERNESTO RAÚL TORRES VÉLIZ**.

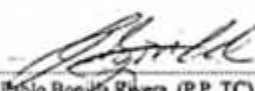
Siendo las 4:30 p.m. hs. del día jueves 28 de diciembre del 2000, se levanta el acta.


Dra. Luz Oyola de Bardales (P.P., D.E.)
Presidente


Dra. Nancy Lozano Reyes (P.P., D.E.)
Miembro


Dr. Manuel Palomino Yamamoto (PP, T.P.)
Miembro


Dr. Jorge Arroyo Acevedo (P. Asoc. T.C.)
Miembro


Mg. Pablo Bonilla Rivera (P.P., TC)
Miembro

Observaciones: _____

"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TOXICO"

Jr. Puno N° 1002, Jardín Botánico, • Lima 1 • Perú • Telf. (511) 328-4737 / 328-4740 • Fax: (511) 328-4741 • Ap. Postal 1760 • Lima 1
Email: decanofyb@unmsm.edu.pe <http://www.unmsm.edu.pe/farma/homefarma>

A MIS PADRES,

Anselmo y Miguelina

por el apoyo y confianza

que me dieron en todo momento.

A MIS HERMANOS,

Ana Melva y Gustavo,

porque creyeron en mí

y nunca dejaron de alentarme.

**A todos los familiares
y amigos que apostaron
por mí.**

AGRADECIMIENTOS

**Al Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo,
por su valiosa ayuda en la asesoría de la tesis.**

**A los miembros del Jurado Examinador,
Por sus observaciones para mejorar este trabajo**

**A los profesores del laboratorio de farmacología de la
Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM, por el
apoyo y consejos brindados.**

A CONCYTEC por el apoyo económico.

**A todas las personas que de alguna manera me ayudaron en
la realización de este trabajo.**

**A Dios y la Virgen María, por la fuerza y confianza, en los
momentos que más se necesitan.**

ASESOR DE LA TESIS:

Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo.

MIEMBROS DEL JURADO EXAMINADOR:

Dra. Luz Oyola de Bardales.
Dra. Nancy Lozano Reyes.
Dr. Manuel Palomino Yamamoto.
Mg. Pablo Bonilla Rivera.
Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo.

INDICE

	Pág.
Resumen en español	
Resumen en inglés.	
Introducción.....	1
II. Generalidades.....	2
III. Material y métodos.....	5
IV. Resultados.....	14
V. Discusión.....	26
VI. Conclusiones.....	32
Referencias bibliográficas.....	33
Anexos.....	37

RESUMEN

Se ha estudiado la influencia sobre la presión arterial del extracto hidroalcohólico del tallo de *Apium graveolens* L (*apio*), procedente de Tarma y Lima en ratas y perros, así como la toxicidad aguda (DL₅₀) en ratones. El efecto hipotensor se evaluó utilizando el método de Francois – Franck, método directo de registro de medida de la presión arterial por canulación en la arteria carótida. Se determinó una Dosis Efectiva Media (DE₅₀) de 20 y 46 mg/Kg por vía intravenosa para perros y ratas respectivamente la que disminuyó en un 50% la presión basal correspondientemente. No se encontró diferencias significativas del efecto en ambos animales al recibir apio de Tarma y Lima, asimismo los valores de presión arterial en ratas no fueron modificadas después de su administración peroral. Se descartó el efecto histaminérgico, colinérgico, β -adrenérgico, bloqueador α -adrenérgico y de los iones potasio. En perros con hipertensión inducida por adrenalina y etilefrina en solución fisiológica la redujo en 70 mm Hg. Se determinó la DL₅₀ en ratones albinos por vía intraperitoneal, siendo 4,6 y 2,6 g/Kg para el apio de Lima y Tarma, respectivamente. El estudio fitoquímico mediante cromatografía en capa fina reveló la presencia de posibles flavonoides, aislándose el que se encontró en mayor proporción al que se le atribuye la propiedad encontrada. Se concluye que el apio disminuye la presión arterial en ratas y perros normotensos así como en perros con hipertensión inducida.

Palabras clave: *Apium graveolens*, efecto hipotensor, apio.

SUMMARY

The influence on blood pressure of the hydroalcoholic extract of the stem of *Apium graveolens* L (celery), from Tarma and Lima in rats and dogs, as well as acute toxicity (LD50) in mice has been studied. The hypotensive effect was evaluated using the Francois-Franck method, a direct method of recording blood pressure measurement by cannulation in the carotid artery. A Mean Effective Dose (ED50) of 20 and 46 mg/Kg was determined intravenously for dogs and rats, respectively, which decreased the baseline pressure accordingly by 50%. No significant differences in the effect were found in both animals when receiving celery from Tarma and Lima, also the blood pressure values in rats were not modified after their peroral administration. The histaminergic, cholinergic, α -adrenergic, α -adrenergic blocker and potassium ions effect was ruled out. In dogs with adrenaline and ethylephrine-induced hypertension in physiological solution, it was reduced by 70 mm Hg. The LD50 was determined in albino mice intraperitoneally, with 4.6 and 2.6 g/kg for the celery of Lima and Tarma, respectively. The phytochemical study by thin layer chromatography revealed the presence of possible flavonoids, isolating the one found in greater proportion to which the property found is attributed. It is concluded that celery lowers blood pressure in rats and normotensive dogs as well as in dogs with induced hypertension.

Keywords: *Apium graveolens*, hypotensive effect, celery

I. INTRODUCCION.

En los últimos años se ve un resurgimiento cada vez más importante del interés en la medicina tradicional, no solamente en la población sino en los círculos científicos. Resaltando la plantas medicinales como el recurso más usado en el marco de esta medicina tradicional. (13, 18, 24, 34)

Existen muchas plantas comestibles a las cuales se les atribuye propiedades medicinales y que se consumen masivamente. Una de estas es el Apium graveolens.L conocido popularmente como “apio” al que se le asocia muchas propiedades terapéuticas, algunas de las cuales han sido demostradas científicamente a nivel pre-clínico, como sus efectos: diurético (5), antiinflamatorio (29), espasmolítico (24), hepatoprotector (38), analgésico (4), hipocolesterolémico (45), etc, sin embargo, también se le conoce como antidisminorreico, antiasmático, anticonvulsivo, carminativo, afrodisiaco, etc, (2, 5, 36, 46) propiedades avaladas sólo por el conocimiento tradicional.

Una propiedad importante de esta planta, mencionada en pocos apuntes bibliográficos tradicionales del Perú es su efecto hipotensor (36), el cual no ha sido investigado en nuestro país, ni existen en la actualidad preparaciones farmacéuticas para este fin, esta propiedad que se menciona es muy importante debido a la alta incidencia de hipertensión arterial en los peruanos y cuyas consecuencias son causa de índices de mortalidad elevados (28, 40). Por lo tanto, la presente investigación consideró los siguientes objetivos:

1. Comprobar el efecto hipotensor del extracto alcohólico de Apium graveolens L en perros y ratas anestesiadas por vía intravenosa y demostrar su efecto por vía peroral.
2. Hallar la dosis letal media (DL50) del extracto alcohólico de Apium graveolens en ratones
3. Investigar el probable mecanismo de acción hipotensor observado.
4. Demostrar que los metabolitos secundarios –posibles flavonoides- que se encuentran en mayor proporción, son los responsables del efecto hipotensor

II. GENERALIDADES

La especie *Apium graveolens L.* estudiada, fue reconocida en el Herbario San Marcos del Museo de Historia Natural, fue determinada según el Sistema de clasificación de Engler y Prantl, modificado por Melchior en 1964, como sigue: (anexo)

DIVISIÓN : ANGIOSPERMAE

CLASE : DICOTYLEDONEAE

SUBCLASE : ARCHICHLAMYDEAE

ORDEN : UMBELALES

FAMILIA : APIACEAE

GENERO : *Apium*

ESPECIE : *Apium graveolens L.*

N.V. : “APIO”

La mayoría de estudios a nivel nacional sobre el apio son de tipo agronómicos y químico-bromatológicos (44) orientados a su utilidad alimenticia. Entre los trabajos farmacológicos existe una investigación en la cual se argumenta que su efecto diurético se debe a la presencia excesiva de iones potasio, los cuales al ser excretados rápidamente por los riñones arrastran agua con lo cual aumentan la excreción urinaria. (5).

Existen investigaciones extranjeras a nivel pre-clínico sobre algunas propiedades terapéuticas del apio, como por ejemplo, su efecto analgésico sobre los retorcimientos inducidos por ácido acético en ratas (4), disminución de los parámetros lipídicos en el suero e hígado de ratas alimentadas con una dieta rica en grasas (45), actividad quimiopreventiva sobre el cáncer de estómago inducido por benzopirenos en ratones (50), acción antifúngica y antibacteriana de sus aceites esenciales sobre determinados tipos de hongos y bacterias (30), actividad hepatoprotectora frente a intoxicación por paracetamol y tioacetamida en ratas.(38)

En una de las referencias que se tienen sobre su acción sobre el sistema cardiovascular se estudia el efecto hipotensor del extracto acuoso en conejos obteniendo resultados positivos (23), la principal referencia enfoca sobre la acción vasodilatadora de una flavona denominada apigenina, aislada del apio, la cual mostró efecto vasodilatador *in vitro* sobre aorta aislada de rata, manifestándose que esto se debe a la disminución del pasaje de iones calcio a través de los canales de Ca^{2+} operados por voltaje y receptor (21).

Actualmente en algunas revistas internacionales se discuten las propiedades terapéuticas de algunas plantas alimenticias, como la propiedad antibiótica del *Allium sativum* conocido como "ajo", la actividad antilipémica y antidiabética de *Allium cepa* "cebolla" y el efecto hipotensor del apio (41). Torres y col. 1995, al evaluar preliminarmente del efecto hipotensor de *Apium graveolens*, *Uncaria tomentosa* y *Huamanpinta chuquiraja*, encontró que el extracto alcohólico de apio tenía un marcado efecto hipotensor administrado por vía intravenosa en perros, esta confirmación de las referencias bibliográficas tradicionales y científicas ameritó un estudio orientado más hacia la aplicación terapéutica, ya que el apio es consumido ampliamente por la población, en forma de alimento y medicina, además de que crece y es cultivado en gran proporción en nuestro país.(44)

Es innegable que un alto porcentaje de la población no puede acceder a la medicina moderna y la solución de sus dolencias se basa en el uso de plantas medicinales. (13)

El uso de esta planta en preparados como cocimiento o macerado en alcohol o aguardiente tiene un marcado efecto hipotensor observado en experimentos preliminares *in vivo* en conejos y perros por vía intravenosa y podría causar accidentes en personas que lo utilicen por vía oral en preparaciones muy concentradas.

Siendo la hipertensión arterial una enfermedad de actualidad, con una incidencia alta en los peruanos y cuyas consecuencias son fatales (28, 40) y tomando

en cuenta que su tratamiento a base de medicamentos con costos muchas veces inaccesible a gran parte de la población, muchas personas recurren a la medicina tradicional en busca de solución a esta enfermedad lo que conlleva a utilizar preparados muchas veces sin el debido conocimiento, por lo que en lugar de mejorar, corren el riesgo de empeorar o morir. (27)

Es necesidad que en el marco de revalorización de la medicina tradicional se le ofrezca a la población medicinas alternativas que tengan propiedades farmacológicas demostradas y que cuenten con estudios de toxicidad al menos aguda que dé parámetros de referencia para su uso. Esto es una obligación de las entidades científicas y una responsabilidad del estado para con la población. (27)

Los estudios realizados acerca del apio en otros centros de investigación hasta la actualidad, si bien es cierto han llegado a establecer el probable mecanismo de acción *in vitro*, (21) no nos brinda una posibilidad práctica de uso, nuestra realidad exige metodologías sencillas y válidas que nos permitan estudiar y aprovechar directamente nuestros recursos vegetales terapéuticos y ponerlos a disposición o no de la población. (27). Los estudios *in vivo* nos dan una idea de cómo se comportan los principios activos presentes en el extracto sobre el organismo y como influyen los diferentes sistemas de regulación fisiológica frente a los efectos producidos por el extracto (7). Además se estudió la influencia del clima sobre los efectos farmacológicos de la planta, ya que se comparó el apio colectado en Lima (costa) y Tarma (sierra).

Esta investigación fue dirigida en ese sentido y se ha intentado, con los medios de que disponemos, aclarar cuáles son sus acciones y tratar de llegar a su mecanismo de acción por exclusión.

III. MATERIAL Y METODOS.

Material y equipo de laboratorio utilizados.

a. Material biológico.

- Tallos de *Apium graveolens* (apio).
- 30 Perros domésticos (*Canis familiaris*) macho de 5 a 10 K de peso (al momento del experimento).
- 200 Ratones albinos (*Mus musculus*) raza Swiss machos de 17 a 25 g de peso (al momento del experimento)
- 20 Ratas Sprague-Dawley (*Rattus norvergicus*) machos de 250 a 300 g de peso. (al momento del experimento).

b. Material químico y farmacológico.

- | | |
|---|-------------------------------------|
| • Pentobarbital sódico 6,5 %
(Halatal de uso veterinario). | • Citrato de sodio. |
| • Uretano. (E. Merck) | ▪ Sulfato de Magnesio. |
| • Orciprenalina 0,5 mg/mL
(Alupent ampolla BOEHRINGER) | ▪ Histamina. (SIGMA) |
| • Etilefrina 10 mg/mL
(Effortil ampolla BOHERINGER) | ▪ Heparina. (TRIFARMA) |
| • Adrenalina 1 mg/mL
(Epinefrina ampolla DROKASA) | ▪ Acetato de etilo. (SIGMA) |
| • Propranolol. | ▪ Eter. (SIGMA) |
| • Clorfenamina maleato 10mg/mL
(cloro alergan ampolla SANITAS) | ▪ Etanol 96 °(SIGMA) |
| • Cloruro de sodio al 0,9 %
(TRIFARMA) | ▪ Acido sulfúrico. (SIGMA). |
| • Acetilcolina. (SIGMA) | ▪ Acido acético glacial.
(SIGMA) |
| | ▪ Cloroformo. (SIGMA) |
| | ▪ Metanol. (SIGMA) |
| | ▪ N-hehano (SIGMA) |

c. Equipos y otros accesorios.

- Manómetro de mercurio para perros y ratas.
- Quimógrafo
- Polígrafo Grass modelo 5E
- Mesa de Bernard para perros y ratas.
- Equipo de disección.
- Lámpara de cabecera
- Balanza analítica.
- Cánulas, arterial (Francois-Franck) y venosa
- Sonda gástrica de polietileno. Nº 7.

Métodos.

El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de farmacología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Se ha utilizado el método de experimentación farmacológica *in vivo*. (7, 8, 22) según el modelo experimental de Francois-Franck .1899. (Método directo de medida de la presión arterial por canulación en la arteria carótida)

Las estrategias para solucionar los problemas planteados y alcanzar los objetivos propuestos fueron los siguientes: (Fluxograma – anexo)

1. Obtención del extracto.

a. Preparación de la muestra. (CYTED, 1995)

Se recolectaron plantas de apio de Lima (Huachipa) y Tarma, luego se identificaron y clasificaron botánicamente en el Herbario San Marcos del Museo de Historia Natural.

b. Método de extracción. (Lock, 1994)

A los tallos secos y molidos (a partir de 13 plantas de apio fresco de

Lima, que pesaron 7,60 Kg. se obtuvo 6,00 Kg. de tallo fresco, los cuales secos y molidos pesaron 295 g.) y (a partir de 12 plantas de apio fresco de Tarma, que pesaron 5,00 Kg se obtuvo 3,50 Kg de tallo fresco, los cuales secos y molidos pesaron 273 g), se les maceró en alcohol étílico de 80° durante 10 días con agitaciones periódicas, se decantó, filtró y se evaporó totalmente el solvente, obteniéndose el extracto que se utilizó para los estudios correspondientes.

Para la administración intravenosa, el extracto se disolvió en suero fisiológico y se filtró.

2. Determinación de la Dosis Letal Media (DL₅₀) en ratones por vía intraperitoneal (i.p) (Cotillo y col, 1990)

Se determinó la Dosis Letal Media (DL₅₀) de los extractos de apio de Lima y Tarma, por vía intraperitoneal en ratones albinos machos (17 - 25 g de peso). Para el estudio de cada extracto se emplearon 56 ratones, divididos en 7 grupos, los que fueron inyectados con 0,5 mL. de soluciones del extracto en suero fisiológico (rango 2 000 a 3 500 mg/Kg ratón, extracto Tarma y rango 4 000 a 5 500 mg/Kg ratón. extracto Lima). El grupo control fue inyectado con 0,5 mL. de suero fisiológico. La mortalidad se registró periódicamente durante 72 horas. La DL₅₀ fue calculada por el método de transformación de probits (Tainter y Miller 1944), utilizando como parámetros el logaritmo de la dosis (mg/Kg ratón) y el porcentaje de la mortalidad, obteniéndose la curva sigmoidea en forma computarizada. Los cálculos se realizaron empleando un programa estadístico desarrollado en la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

3. Determinación de la Dosis Efectiva Media (DE₅₀) del efecto hipotensor del extracto en perros y ratas anestesiados normotensos. Comparación del efecto hipotensor de los

extractos de Lima y Tarma.

Para la obtención de la DE_{50} se utilizaron 6 perros machos de 5 a 10 Kg. Se procedió según la técnica de Francois-Franck (1899) modificada, método directo de registro de medida de la presión arterial por canulación en la arteria carótida. Los animales se anestesiaron con pentobarbital sódico (Halatal, de uso veterinario) a una dosis de 26 mg/Kg i.v., luego se procedió mediante disección a canular la vena safena para la administración del extracto, fármacos y suero fisiológico, posteriormente se aisló y canuló la arteria carótida, la cual se conectó a un manómetro de mercurio para el registro de la presión arterial mediante una aguja inscriptora en un quimógrafo ahumado. Posteriormente los quimogramas fueron fijados mediante una mezcla de laca a la piroxilina con tinner para el reporte de los resultados, análisis y discusión correspondientes.

Para la determinación de la DE_{50} en ratas se utilizó la técnica mencionada anteriormente variando sólo la forma de registro de la presión. (Staff of the Departament of pharmacology University of Edimburgo, 1970) (12)

Se utilizaron 5 ratas albinas machos de aproximadamente 300 g de peso, las que fueron anestesiadas con uretano al 25 %; 0,6 mL/100 g de peso (1 500 mg/Kg) (del volumen total se administró la mitad por vía i.p. y la otra mitad por vía subcutánea), luego se le practicó una traqueotomía y canuló la tráquea, enseguida se aisló y canuló la vena femoral, la cual se conectó a un dispositivo especial para la administración del extracto y suero fisiológico heparinizado evitando la administración de burbujas de aire. Por último se aisló y canuló la arteria carótida, la cual se conectó mediante una cánula llena con suero fisiológico heparinizado a un transductor de presión. Las ondas de presión arterial fueron amplificadas en un polígrafo Grass (Modelo 5E) de dos canales y graficada mediante un oscilógrafo de

la misma marca en papel especial.

La DE_{50} se obtuvo teniendo en cuenta lo siguiente: Tomando como dosis máxima aquella que le produjo al animal experimentado la mayor caída de presión arterial se buscaron dosis descendentes hasta que no produjeron ningún efecto hipotensor, luego utilizando papel milimetrado, se registraron en las abcisas el logaritmo de la dosis y en las ordenadas el porcentaje de efecto, obteniendo una curva dosis - respuesta. Trazando una línea horizontal que una el 50 % del efecto con la curva y desde allí una vertical hacia el logaritmo de la dosis obtenemos la DE_{50} . Las DE_{50} obtenidas en los animales de experimentación se promediaron, resultando la DE_{50} final, utilizada para las pruebas posteriores.

Para comparar los efectos de los extractos de Lima y Tarma, tanto en el perro como en la rata, se administraron a un mismo animal de experimentación con un periodo de recuperación de 30 minutos, dosis similares de los dos extractos vía i.v.

Los gráficos obtenidos sirvieron para el reporte de los resultados, análisis y discusión correspondiente.

4. Obtención de una dosis hipotensora por vía peroral en ratas anestesiadas.

Utilizando la misma técnica para el registro de la presión arterial en ratas se procedió de la siguiente manera:

Se obtuvo un registro de la presión arterial de 5 ratas durante una hora sin haber administrado previamente ninguna sustancia, luego mediante una sonda gástrica se le administró una dosis 30 veces superior (2 550 mg/Kg) respecto a la que produce el efecto máximo por vía intravenosa (85 mg/Kg), y se registró nuevamente la presión por espacio de una hora. También se probó el efecto del cocimiento y extracto de apio fresco en dosis equivalentes a las del extracto alcohólico

administrado. Los gráficos obtenidos sirvieron para el reporte de los resultados y discusión correspondiente.

5. Evaluación del posible mecanismo de acción mediante el uso de agonistas y antagonistas farmacológicos, en perros anestesiados. (Staff of the Department of pharmacology University of Edimburgo, 1970)(12).

Utilizando la misma técnica para el registro de la presión arterial en perros y teniendo la DE_{50} del extracto se hicieron las siguientes pruebas:

a. Prueba para descartar el posible efecto histaminérgico del extracto.

Habiendo registrado previamente la caída de presión arterial provocada por una DE_{50} del extracto, se administró al animal, clorfenamina y ranitidina a una dosis de 1 mg/Kg y 4 mg/Kg de peso respectivamente, luego de 5 minutos se administró nuevamente el extracto. (n = 6)

b. Prueba para descartar el posible efecto de los iones potasio presentes en el extracto.

Se inyectó al animal 0,5 mL y 1 mL de cloruro de potasio al 20 % equivalentes a 100 y 200 mg de KCl (50 y 100 mg de ion potasio respectivamente). (n = 6)

c. Prueba para evaluar la actividad simpaticolítica alfa del extracto.

Luego de la administración de una DE_{50} del extracto, se inyectó adrenalina 0,0015 mg/Kg. 1 mg/mL También se probó el efecto que causa la administración de extracto inmediatamente después de la inyección de adrenalina. Otra variante más fue la administración simultánea tanto de la adrenalina como del extracto. (n = 6)

d. Efecto del extracto sobre la hipertensión provocada por la

administración en goteo de una solución de adrenalina y etilefrina.(Tresguerres, 1999)

Administrando una solución hipertensora (10 ampollas de adrenalina 1 mg/mL. más 5 ampollas de etilefrina 10 mg/mL. por litro de cloruro de sodio al 0,9 %) por goteo, se produjo una elevación continua de la presión arterial de aproximadamente 50 mm Hg por encima de la presión basal, en ese momento se administró en primer momento una DE_{50} y luego dosis elevadas del extracto hasta contrarrestar notoriamente esa hipertensión. (n = 6)

e. Prueba para evaluar la actividad colinérgica del extracto. (12)

Probando previamente el efecto de la DE_{50} del extracto y de acetilcolina 0,0001 mg/Kg, solución 0,02 mg/mL., se administró al perro, atropina 2 mg/Kg, solución 10 mg/mL. Luego de 10 minutos se volvió a administrar el extracto y la acetilcolina. (n = 6).

f. Prueba para evaluar la actividad Beta-adrenérgica del extracto.(12)

Probando previamente el efecto de la DE_{50} del extracto y orciprenalina 0,025 mg/Kg, se administró propranolol 0,05 mg/Kg, solución 10mg/mL. Luego de 10 minutos se volvió a administrar el extracto y la orciprenalina. (n = 6).

6. Ensayo de solubilidad y marcha fitoquímica preliminar.

(Lock,1994)

a. Ensayo de solubilidad. Del extracto se tomó pequeña cantidad de muestra (5 mg.) y se colocó en siete tubos de ensayo y a cada uno se le añadió 0,5 a 1

mL. de disolvente de diferente polaridad. (agua, etanol, metanol, acetona, cloroformo, acetato de etilo, benceno).

b. Marcha fitoquímica preliminar.

Al extracto seco (0,5 g) se le solubilizó en metanol y se le realizaron los siguientes ensayos:

Reacción para alcaloides.

A la solución metanólica del extracto se le adicionó gotas del reactivo de Dragendorff, la formación de un precipitado color naranja indica resultado positivo.

Presencia de grupos fenólicos

A la solución metanólica del extracto se le agregó gotas del reactivo de tricloruro férrico, la observación de una tonalidad verde azulado, verde, violeta o azul se considera resultado positivo.

Reacción para aminoácidos.

A la solución metanólica del extracto se le trató con el reactivo ninhidrina al 1 % en alcohol luego se llevó a baño (de) maría por dos minutos, la ausencia de cambio de color indica resultado negativo.

Reacción para esteroides.

Reacción de Lieberman-Bouchard.- A la solución metanólica del extracto se le trató con este reactivo y luego se calentó por algunos minutos, después de enfriarse, la presencia de una coloración azul, verde o naranja indica resultado positivo.

Verificación específica de taninos.

A la solución metanólica del extracto se le agregó una solución de gelatina al

1 %, la formación de un precipitado blanco indica resultado positivo.

Verificación específica de flavonoides.

La muestra en solución metanólica se trató con pequeña cantidad de limaduras de magnesio, luego se le añadió ácido clorhídrico concentrado, la observación de una tonalidad roja, indica resultado positivo.

7. Separación e identificación de las fracciones. Obtención de la fracción con actividad hipotensora. (Lock,1994)

Se realizó una cromatografía en capa fina preparativa, para lo cual se sembró en una placa 0,5 mL del extracto al 25 % (de la misma forma en que se administra por vía intravenosa), se empleó como sistema de solvente: Butanol : Ácido acético : Agua (4:1:5); luego se reveló el cromatograma con luz UV, marcando las fracciones (manchas fuoercentes) enseguida se sometió a los vapores de amoniáco observando que en algunas fracciones la fluorescencia era más intensa, lo que implica la presencia de un posible flavonoide (Lock, 1994), para comprobar la presencia de grupos fenólicos se reveló con FeCl_3 coloreándose algunas fracciones sobre todo la última, que es la que se aisló del cromatograma por encontrarse en mayor proporción. Aislada y purificada esta fracción se empleó nuevamente el modelo de evaluación de presión arterial, administrándose a la rata vía intravenosa para comprobar el efecto hipotensor.

8. Tratamiento estadístico de datos.

Los datos fueron analizados aplicando técnicas estadísticas descriptivas y analíticas; los valores han sido considerados estadísticamente significativos a un $p < 0,05$. Se utilizó el programa estadístico computarizado SPSS – 7.2, 1995.

IV. RESULTADOS

Habiendo realizado los ensayos correspondientes según la metodología descrita, mencionaremos los siguientes resultados:

1. Obtención del extracto.

Apio de Lima. Se encontró un porcentaje de humedad de 95%. Del tallo seco y molido, después de la maceración, se obtuvieron 31,50 g de extracto, que indica un porcentaje de rendimiento, desde tallo fresco hasta extracto, de 0,5% (Cuadro N° 1). De otra forma también podemos decir que a partir de una planta de apio de aproximadamente 600 g se obtuvo 3,15 g de extracto.

Apio de Tarma. Se encontró un porcentaje de humedad de 92%. Del tallo seco y molido, después de la maceración se obtuvo 52 g de extracto, que indica un porcentaje de rendimiento, desde tallo fresco hasta extracto, de 1,5% (Cuadro N° 2). De otra forma también podemos decir que a partir de una planta de apio de aproximadamente 400 g se obtuvo 6 g. de extracto.

2. Determinación de la Dosis Letal Media. (DL₅₀)

El valor de la DL₅₀ (i.p.48 horas) para el extracto de **apio de Lima** fue de **4 608,807** mg/Kg. ratón, con límites fiduciales (95%) de 4 786,996 y 4 437,251 mg/Kg ratón. (Cuadro N° 3, Gráfico N° 1). El valor de la DL₅₀ (i.p. 48 horas) para el extracto de **apio de Tarma** fue de **2 684,486** mg/Kg ratón con límites fiduciales (95%) de 2 871,321 y 2 509,808 mg/Kg ratón. (Cuadro N° 4, Gráfico N° 2).

3. Determinación de la Dosis Efectiva Media (DE₅₀) de efecto hipotensor en perros y ratas anestesiados.

DE₅₀ en el perro. La presión arterial sistólica encontrada en los perros experimentados fue de $101,6 \pm 11,6$ mm Hg. La dosis mínima que produce el menor descenso de la PA ($7,0 \pm 2,5$ mm Hg.) fue de $5,44 \pm 2,23$ mg /Kg. La dosis máxima que produce el mayor descenso de la PA ($70,8 \pm 11,7$ mm Hg) fue de $131,6 \pm 1,03$ mg/Kg. (Cuadros N° 5 y 6). La DE₅₀ promedio de la experimentación en 6 perros fue de $20,23 \pm 2,50$ mg/Kg. Se obtuvo caídas de presión de duración entre 15 y 90 segundos según la dosis. (Cuadro N° 7. Gráfico N° 3)

Se comparó dosis iguales de los extractos de la costa y sierra, y no se observó cambio alguno (Gráfico N° 4)

DE₅₀ en la rata. La presión arterial media encontrada en las ratas experimentadas fue de $118 \pm 4,4$ mm Hg. La dosis mínima que produce el menor descenso de la PA ($13,0 \pm 9,0$ mm Hg) fue de 5 mg/Kg. La dosis máxima que produce el mayor descenso de la PA ($101 \pm 11,4$ mm Hg) fue de $93,0 \pm 17,0$ mg/Kg. (Cuadros N° 5 y 6). La DE₅₀ promedio de la experimentación en 5 ratas fue de $46,37 \pm 13,04$ mg/Kg. Se obtuvo caídas de presión de duración entre 5 y 30 segundos según la dosis. (Cuadro N° 8, Gráfico N° 5)

La administración de una dosis de 170 mg/Kg provocó en la mayoría de ratas experimentadas una caída sostenida de la presión con paro cardíaco, la cual prosiguió por 50 segundos al cabo del cual se restablece la presión basal. (Gráfico N° 6).

Se comparó dosis iguales de los extractos de la costa y sierra, observándose que el extracto de la sierra tiene un efecto hipotensor ligeramente mayor que el extracto de la costa. (Gráfico N° 7)

4. Obtención de una dosis hipotensora por vía peroral en ratas anestesiadas.

No se observó cambio en la presión durante el lapso de una hora. La administración peroral del cocimiento y el jugo del tallo de apio fresco a dosis equivalentes del extracto alcohólico mencionadas anteriormente tampoco causaron disminución de la presión arterial en el lapso de una hora.

5. Evaluación del posible mecanismo de acción.

a. Descarte del efecto histaminérgico.

El extracto mostró disminución de los valores de la PA, no obstante haber bloqueado los receptores histaminérgicos con clorfenamina y ranitidina. (Gráfico N° 8 a, b, c, d)

b. Descarte del efecto de los iones potasio.

Los K⁺ no causaron disminución de la presión arterial similares al del extracto (Gráfico N° 9)

c. Evaluación de la actividad simpaticolítica alfa del extracto.

El pico característico del efecto hipertensor de la adrenalina se modificó transformándose en meseta, cuando ésta se administró en el momento que el efecto del extracto había terminado, pero luego de unos minutos la inyección de adrenalina provocó nuevamente su efecto característico. La administración del extracto inmediatamente después de la adrenalina provocó disminución de sus efectos y por último, la administración simultánea del extracto y la adrenalina neutralizó más notoriamente los efectos de esta última (Gráfico N° 10 a, b, c, d).

d. Efecto del extracto sobre una hipertensión provocada por la administración en goteo de una solución de adrenalina y etilefrina.

La administración del extracto en el momento que la presión se estableció por

encima de su presión basal, causó un descenso de 70 ± 10 mm Hg. (Gráfico N° 11)

e. Evaluación de la actividad colinérgica del extracto.

El extracto mostró disminución de los valores de la PA, no obstante haber bloqueado los receptores colinérgicos muscarínicos con atropina. En el gráfico N° 12 a y b vemos el efecto de la administración de acetilcolina y el extracto antes y después de administrar atropina.

f. Evaluación de la actividad Beta - adrenérgica del extracto.

El extracto mostró disminución de los valores de la PA, no obstante haber bloqueado los receptores beta adrenérgicos con propranolol, en cambio si anuló el efecto hipotensor de la orciprenalina. (Gráfico N° 13).

6. Ensayo de solubilidad y marcha fitoquímica preliminar

a. Ensayo de solubilidad.

Los extractos de apio de la costa y la sierra son solubles en agua y etanol y medianamente solubles en metanol. (Cuadro N° 9)

b. Marcha fitoquímica preliminar.

Los extractos de apio dieron reacciones positivas a la presencia de flavonoides, cumarinas, esteroides, glicósidos. (Cuadro N° 10)

07. Separación e identificación de la fracción con efecto hipotensor.

La fracción aislada (un posible flavonoide) mostró el efecto hipotensor observado en el extracto total (Gráfico N° 13)

CUADRO N° 1.

**Apio de Lima. Equivalencia de los productos
obtenidos en el proceso de extracción**

Producto	Cantidad (g)	Porcentaje (%)
Tallo fresco	6 000,00	100,00
Tallo seco	295,00	4,92
Extracto	31,50	0,53

CUADRO N° 2.

**Apio de Tarma. Equivalencia de los productos
obtenidos en el proceso de extracción**

Producto	Cantidad (g)	Porcentaje (%)
Tallo fresco	3 500,00	100,00
Tallo seco	273,00	7,80
Extracto	52,40	1,50

CUADRO N° 3
Cálculo de la Dosis Letal Media (DL₅₀) de *Apium graveolens*
(Lima) por vía intraperitoneal

Dosis mg/Kg	Casos (N° ratones)	Positivos (muertes)		Probits	
		N°	%	Empíricos	provisorios
4 000	8	0	0	0	3,57
4 250	8	2	25	4,32	4,19
4 500	8	4	50	5	4,77
4 750	8	5	62,5	5,32	5,32
5 000	8	6	75	5,68	5,84
5 250	8	7	87,5	6,16	6,34
5 500	8	8	100	0	6,81

Log DL50 = 3,663589

DL50 = 4 608,807 mg/Kg

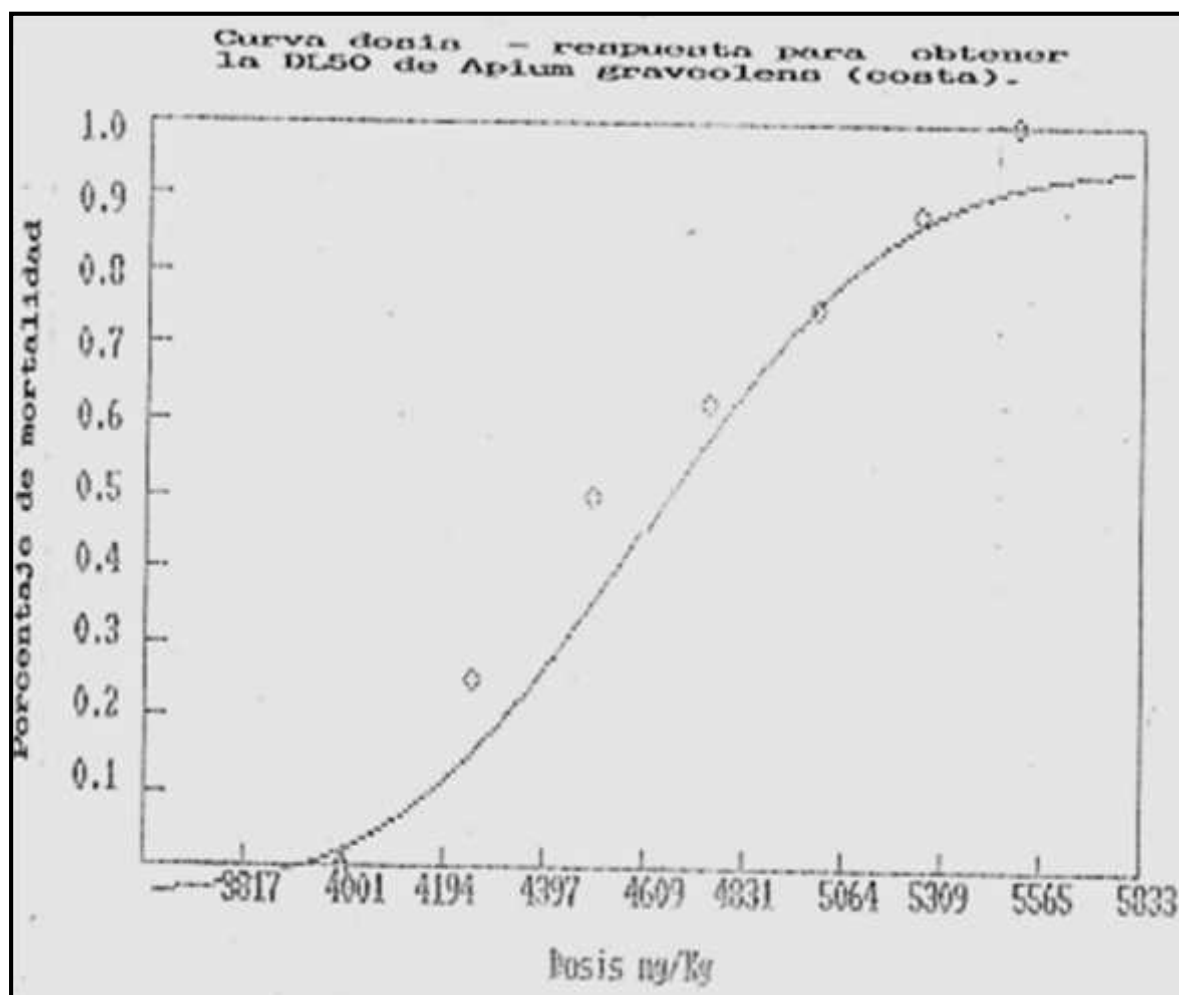
ERROR STANDARD = 0.008405349

LIMITES DILUCIDALES AL 95 % DE CONFIANZA:

LIM. SUPERIOR = 4 786,996

LIM INFERIOR = 4 437,25

GRAFICO N° 1



CUADRO N° 4.
Cálculo de la Dosis Letal Media (DL50) de *Apium graveolens*
(Tarma) por vía intraperitoneal.

Dosis mg/Kg	Casos (N° ratones)	Positivos (muertes)		Probits	
		N°	%	Empíricos	provisorios
2 000	8	0	0	0	3,34
2 250	8	2	25	4,32	4,00
2 500	8	3	37,5	4,68	4,60
2 750	8	4	50	5,00	5,14
3 000	8	5	62,5	5,32	5,63
3 250	8	7	87,5	6,16	6,08
3 500	8	8	100	0	6,50

Log DL50 = 3,428861

DL50 = 2 684,486 mg/Kg

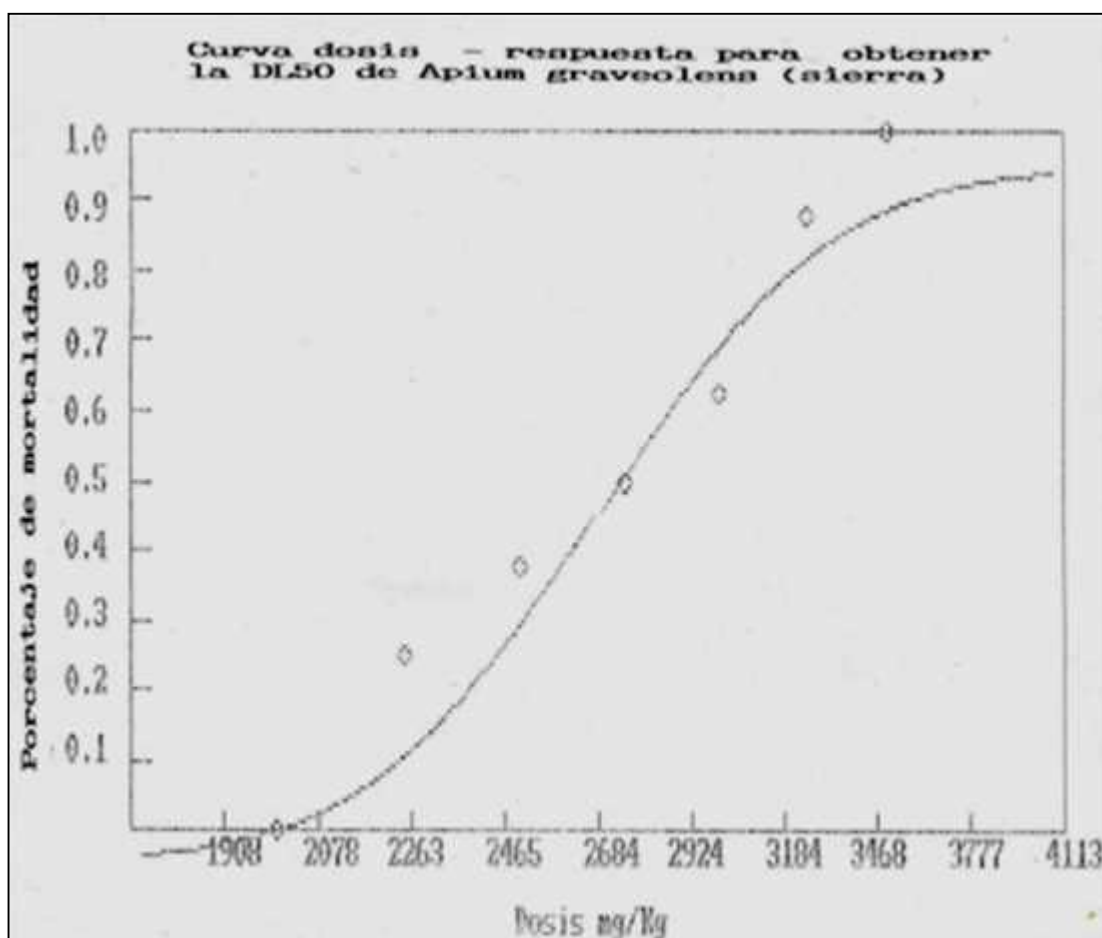
ERROR STANDARD = 0,01490846

LIMITES DILUCIDALES AL 95 % DE CONFIANZA:

LIM. SUPERIOR = 2 685,486

LIM. INFERIOR = 2 509,808

GRAFICO N° 2



CUADRO N° 5
Presiones sanguíneas basales en perros y ratas
durante la evaluación de la DE50

PERRO Presión arterial sistólica mm Hg (VM \pm DE) (n = 5) p < 0,05	RATA Presión arterial sistólica mm Hg (VM \pm DE) (n = 6) p < 0,05
101,6 \pm 11,6	118 \pm 4,4

CUADRO N° 6
Dosis mínima, máxima y disminución de presión observadas
durante la evaluación de la DE50.

Animal de Experiment.	Dosis Mínima mg/kg (VM \pm DE) p < 0,05	Disminución de presión mm Hg (VM \pm DE) p < 0,05	Dosis Máxima mg/Kg (VM \pm DE) p < 0,05	Disminución de presión mm Hg (VM \pm DE) p < 0,05
Perro (n = 6)	5,44 \pm 2,23	7,0 \pm 2,5	131,6 \pm 1,03	70,8 \pm 11,7
Rata (n = 5)	5.0	13,0 \pm 9,0	93,0 \pm 17,0	101 \pm 11,4

CUADRO N° 7.
Dosis Efectiva promedio del efecto hipotensor
de *Apium graveolens* en perros.

N° animal	Log DE50	DE50 (mg/Kg)
1	1,31	20,41
2	1,26	18,19
3	1,32	20,89
4	1,30	19,95
5	1,39	24,54
6	1,24	17,370
Dosis efectiva media		20,22 ± 2.50

CUADRO N° 8.
Dosis Efectiva promedio del efecto hipotensor
de *Apium graveolens* en ratas.

N° animal	Log de DE50	DE50 (mg/Kg)
1	1,74	54,95
2	1,72	52,48
3	1,54	34,67
4	1,47	29,51
5	1,78	60,25
Dosis efectiva media		46,37 ± 13

CUADRO N° 9.
Prueba de solubilidad de los extractos de *Apium graveolens*
en solventes de distinta polaridad

SOLVENTE	EXTRACTO LIMA	EXTRACTO TARMA
Agua	Soluble	Soluble
Etanol	Soluble	Soluble
Metanol	Soluble * (+/-)	Soluble * (+/-)
Acetona	Insoluble	Insoluble
Cloroformo	Insoluble	Insoluble
Acetato de etilo	Insoluble	Insoluble
Benceno	Insoluble	Insoluble

* Soluble +/- = medianamente soluble

CUADRO N° 10.
Marcha fitoquímica preliminar de los extractos de
Apium graveolens

Reacción para:	Extracto Lima	Extracto Tarma
Alcaloides	-	-
Grupos fenólicos	+	+
Aminoácidos	+	+
Esteroides	+	+
Taninos	-	-
Flavonoides	++	++
Cumarinas	+	+
Glucósidos	++	++

Presente (+) Ausente (-)

V. DISCUSIÓN

Se ha estudiado el efecto hipotensor que produce el extracto alcohólico de *Apium graveolens L* procedentes de Lima y Tarma en perros y ratas y la toxicidad aguda en ratones.

La DE₅₀ de efecto hipotensor halladas para la rata (46,37 mg/Kg) fue mayor que para el perro (20,22 mg/Kg) lo que revela una mayor sensibilidad al extracto en el perro (Cuadros N° 6, 7 y Gráficos N° 3, 5). Se observó que el extracto administrado por vía intravenosa produce caídas de presión de duración corta, entre 5 y 30 segundos en la rata y entre 15 y 90 segundos en el perro, posiblemente debido a una rápida eliminación, por metabolización o excreción renal; además del efecto compensador mediado por baroreceptores (Tresguerres. 1999, Ganong 1998). Ejemplo de sustancias con una rápida biotransformación es la acetilcolina, la que es hidrolizada rápidamente por las colinesterasas y su efecto por vía endovenosa se prolonga pocos segundos. (Goodman y Gilman 1996; Rothlin 1995).

Los valores de presión arterial sistólica control obtenidos en este trabajo, en el caso del perro (101,6 ± 11,6 mm Hg) son menores a los referenciados por Guerra (1946) entre 150 y 200 mm Hg, sin embargo, Guyton –Hall (1998) refiere presiones entre 100 y 120 mm Hg, los cuales están cerca de los encontrados en este trabajo. Sobre la presión sanguínea en la rata los valores encontrados (118 ± 4,4) están dentro del rango de referencia para la especie reportados por otros autores, Cárcamo (2000) encontró valores de 127,26 ± 0,53; Van Dongen (1990) menciona un rango normal de presión arterial sistólica entre 90 – 180 mm Hg. (Cuadro N° 5). En el perro, las dosis mínima y máxima causaron descensos de la presión arterial de 7% y 70% respectivamente. En la rata, las dosis mínima y máxima produjeron descensos de la presión arterial de 11% y 86% (Cuadro N° 6)

La cantidad de extracto que produce una disminución de 50 % de la presión basal en un perro de 10 Kg es 202.2 mg. (DE_{50} 20,22 mg/Kg) que equivale a 38 g de tallo fresco, y la cantidad de extracto que produce una caída máxima de la presión en el mismo perro es 1 310 mg que equivale a 249,5 g de tallo fresco. Para una persona de 70 Kg la cantidad de extracto administrado por vía i.v que produciría una caída pasajera de la presión arterial sería 1 415 mg es decir 268 g de tallo fresco, lo que consiste en aproximadamente media planta de apio.(Cuadros N° 1 y 2). Estas cantidades deducidas a partir de los experimentos en animales pueden servir de base para la formulación de preparados farmacéuticos, teniendo en cuenta que las dosis efectivas en animales de experimentación son mayores que las observadas en el ser humano, debido a la diferencia en cuanto a la superficie corporal, (Malacaray 1987), como sucede por ejemplo en los modelos farmacológicos para evaluar el efecto antiinflamatorio en ratas, la dosis de indometacina por vía oral es de 7 mg/Kg. (CYTED, 1995), si sabemos que la dosis humana es siete veces menor que la rata, solo le corresponde 1 mg/Kg. En el caso de la dosis observada en el perro, al que le corresponde teóricamente el doble de la dosis humana, respecto al efecto hipotensor, al hombre corresponde 750 mg aproximadamente de extracto. Esto quiere decir que el ser humano requiere menos dosis de fármacos que los animales de experimentación.

La comparación de dosis similares de los extractos de apio de Lima (costa) y Tarma (sierra) administrados por vía i.v. en el perro no reveló diferencia, en cambio, esta misma comparación en ratas demostró un efecto ligeramente mayor del extracto de apio procedente de Tarma, (gráficos N° 4 y 7) lo que indica una influencia de la procedencia de la planta, en este caso, la altitud a la cual se cultiva.

Segun Sintet Prost 1989, en cada 100 g de tallo existen 446 mg de K^+ , por lo que se descartó la posibilidad de que el efecto hipotensor se debiera a los iones potasio presentes en el extracto, la administración intravenosa de cantidades de K^+ hasta 20

veces superior a la que se encontraría en una DE_{50} del extracto, no causaron las caídas de presión características del extracto. (Gráfico N° 9).

El efecto hipotensor del extracto de *Apium graveolens* no se debe a influencia histaminérgica, beta-adrenérgica ni colinérgica, ya que bloqueadores farmacológicos de estas acciones no alteran la caída típica de presión que produce el extracto (E & S . Livingstone 1970). La posibilidad de que una sustancia extraña administrada por vía endovenosa desencadene una respuesta histaminérgica, en la cual la histamina liberada causa disminución de la presión arterial se descartó bloqueando los receptores de histamina H_1 y H_2 mediante clorfenamina y ranitidina respectivamente. (Page 1998) (gráfico N° 8) También se descartó el hecho de que el extracto pudiera actuar estimulando receptores β_2 -adrenérgicos, cuya activación causa vasodilatación y una caída de presión arterial como la hace un agonista de éstos, la orciprenalina. La administración de propranolol, un antagonista de receptores β -adrenérgicos, anuló el efecto de la orciprenalina pero no fue capaz de anular el efecto del extracto. (Goodman y Gilman 1996) (Gráfico N° 13). La atropina, un bloqueador de receptores muscarínicos, impidió el efecto hipotensor de la acetilcolina, pero no antagonizó el efecto hipotensor del extracto (Rang y Dale 1992) (Gráfico N° 12); el descarte de este efecto fue importante, debido a la presencia de colina en la planta, la colina aunque es menos potente que la acetilcolina, también causa disminución de la presión arterial (Lorenzo F, 1964), y por otro lado, el efecto del extracto sobre la presión se parece al provocado por la acetilcolina en intensidad y duración. El extracto de apio es capaz de revertir el efecto hipertensor de la adrenalina, un agonista de receptores α y β -adrenérgicos, administrada en dosis única (Gráfico N° 10) y también como parte de una solución hipertensora (adrenalina y etilefrina) administrada en goteo continuo (Gráfico N° 11), lo cual revela su influencia sobre procesos que son desencadenados por entrada de iones Ca^{2+} hacia el interior de las células lisas vasculares (Ko y col,

199) como por ejemplo, estimulación de receptores α_1 -adrenérgicos, que conllevan a provocar su efecto vasoconstrictor, pero no se comportan como bloqueadores competitivos sobre receptores α_1 -adrenérgicos.

Con respecto a la toxicidad aguda en ratones, se encontró una mayor toxicidad en el extracto de apio de la sierra (DL_{50} : 2 684 mg/Kg ratón) que en el extracto de apio de la costa (DL_{50} : 4 608 mg/Kg ratón). Las cuales a dosis tóxicas produjeron convulsiones seguidas de la muerte por paro respiratorio. La mayor toxicidad del extracto de la sierra se podría deber a una mayor concentración de metabolitos secundarios que tengan potencial tóxico, por ejemplo, el probable exceso de cumarinas puede producir hemorragias (Lock); esta diferencia estaría relacionada a la diferente procedencia de la planta, (Lapa 1994) la altitud del apio de la costa, procedente de Huachipa (100 a 250 metros s.n.m) con respecto al apio de la sierra (Tarma, 2 500 a 2 800 metros s.n.m) justificarían la diferencia en toxicidad. Estos valores de DL_{50} obtenidos concuerdan con el hallado por Muhaned y col. 1989; en ratas por vía i.p. de 3 587 mg/Kg. en un estudio para evaluar su efecto antiinflamatorio. Según, la tabla de Williams, (CYTED 1995) sobre clasificación de tóxicos, en dosis de mg/Kg administrados por vía oral, las DL_{50} encontradas están en la escala de ligeramente tóxicas ($\leq 5\,000$ mg/Kg), sin embargo, en este caso lo tomamos como un dato referencial porque sabemos que las dosis letales evaluados por vía intraperitoneal son mucho menores que las halladas para una misma sustancia por vía oral.

No se demostró el efecto hipotensor del extracto administrado por vía peroral en ratas normotensas anestesiadas, ni con dosis 30 veces superiores a la dosis que produce el efecto máximo por vía intravenosa, posiblemente debido a que el principio activo responsable del efecto es muy polar y no se absorbe o el metabolismo del primer paso intestinal o hepático lo biotransforma inmediatamente. Ejemplos de sustancias

potentes que no son eficaces por vía oral son la adrenalina (hipertensor), gentamicina (antimicrobiano), succinilcolina y vecuronio (relajantes musculares periféricos). (Rang y Dale 1992). En el caso de la adrenalina, ésta se conjuga y oxida con rapidez en la mucosa del tubo digestivo y en hígado (Goodman y Gilman 1996). La gentamicina no actúa por vía peroral por que no se absorbe a nivel intestinal (Page, 1998). Otra posibilidad es, que la cantidad absorbida por vía peroral no sea capaz de modificar la presión arterial normal y solo modifique la presión arterial elevada patológicamente, como la que se manifiesta en ratas hipertensas conscientes utilizando L-NAME, un inhibidor de la óxido-nítrico sintasa (Lapa, 1994; Cárcamo, 2000), método en el que se pueden probar el efecto hipotensor administrando el extracto en forma crónica. Indirectamente se demostró que dosis elevadas del extracto, administradas por vía peroral no causan toxicidad al animal, ya que ni la presión arterial ni la función respiratoria se alteraron durante más de una hora, al animal se le mató al cabo de tres horas de observación.

La fracción aislada (posible flavonoide) obtenido mediante cromatografía en capa preparativa (Lock, 1994) a los cuales se le atribuye efecto hipotensor (Ko, 1991), mostraron el efecto observado en el extracto total, manifestando que con la técnica de separación mencionada, es posible hacer un seguimiento del efecto de las fracciones obtenidas, cuando los modelos farmacológicos necesitan pequeñas cantidades de extracto, como el caso del modelo de la evaluación de la presión arterial en la rata, en la que se administra el extracto por vía endovenosa.

Un posible flavonoide fue el responsable de la acción hipotensora. Ko y col. 1991, en estudios en aorta aislada de rata demostraron que una flavona, apigenina, aislada de *Apium graveolens* tenía efecto vasodilatador, manifestando que se debía a la disminución del pasaje de iones calcio a través de los canales de Ca^{2+} operados por voltaje y receptor, lo cual concuerda a lo encontrado en este trabajo, en la que

manifestamos que su efecto está relacionado a mecanismos bioquímicos desencadenados por estimulación de receptores α -adrenérgicos, según Goodman y Gilman. 1996, el efecto vasoconstrictor de la adrenalina es mediado por aumento de calcio intracelular. Este efecto vasodilatador de los flavonoides también es estudiado en el *Petroselinum sativum* (perejil) el cual también contiene apigenina; (Portugal, 2000), en la que estudia la posibilidad de que actúe a través del estímulo de receptores muscarínicos del tipo M₃ por estimulación de la óxido nítrico sintasa en anillos aórticos. Otra investigación relacionada a la investigación de acción hipotensora de flavonoides es la realizada por Novoa B. y col. 1995, en la que demuestran esta acción en la Quercetrina, un flavonoide con actividad hipotensora obtenido del *Croton glabellus*.

El apio es una planta con múltiples acciones farmacoterapéuticas en patologías importantes que afectan al hombre hoy en día, acciones demostradas a nivel pre-clínico y algunas por confirmar. Su utilidad como antihipertensivo y diurético se ve reforzada por su alto contenido de potasio, el cual como se sabe puede ayudar a prevenir la hipertensión. (Goodman y Gilman 1996), además de sus efectos hipocolesteremiante, hepatoprotector, antiinflamatorio y analgésico, anticancerígeno, etc. demostradas científicamente ameritan, su aplicación y estudios a nivel clínico utilizando dosis aproximadas del extracto o su equivalente en planta fresca.

VI. CONCLUSIONES.

1. Se ha comprobado el efecto hipotensor del extracto alcohólico de tallos de *Apium graveolens* en perros y ratas anestesiadas normotensas, siendo las DE₅₀, vía intravenosa, de 20,23 y 46,3 mg/Kg respectivamente. El efecto hipotensor observado fue de duración corta, que depende de la dosis administrada. No observándose diferencia en los efectos relacionada a la procedencia de la planta (Lima y Tarma). No se demostró el efecto hipotensor por vía peroral en la rata anestesiada normotensa, dosis 30 veces superiores a la dosis máxima encontrada por vía I.V. no influyó en la presión normal.
2. Se ha determinado las DL₅₀ de los extractos alcohólicos de *Apium graveolens* procedentes de Lima (costa) y Tarma (sierra), en ratones, vía intraperitoneal, siendo de 4,6 y 2,6 g/Kg respectivamente. Observándose una mayor toxicidad del extracto procedente de Tarma.
3. El efecto hipotensor del extracto de *Apium graveolens* no está relacionado a una acción de tipo histaminérgica, colinérgica ni β_2 -adrenérgica; no se debe a bloqueo de receptores α -adrenérgicos ni es mediada por K^+ , está relacionado a su influencia negativa sobre procesos bioquímicos que son desencadenados por pasaje de Ca^{2+} al interior de la célula.
4. La fracción aislada (un posible flavonoide) que se encuentra en mayor proporción en el extracto, es el responsable del efecto hipotensor.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Amiel P. José. **Metodología de la investigación en las ciencias naturales**. Lima. Perú. 1992
2. Alarco de Z. A. **PERU el libro de las plantas mágicas**. CONCYTEC. Lima. Perú. 1988.
3. Angulo H. P. Proyecto de desarrollo de una base de datos de plantas medicinales y tóxicas. Tesis para optar el grado de Magister en Farmacología. Mención Farmacología experimental. Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM. Lima. Perú. 1998.
4. Atta A. Alkofahi A. Antinociceptive and antiinflammatory effects of some Jordanian medicinal plants extracts. **Journal of Ethnopharmacology**. Mar; 60(2): 117-124. 1998.
5. Aylas E. Efecto diurético de *Apium graveolens* Linn. Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico UNMSM. Lima. Perú. 1991.
6. Cárcamo N.A y col. Estudio mediante sonda doppler del efecto antihipertensivo de los extractos etanólico y acuoso de *Allium ampeloprasum* (Elefant garlic), en ratas conscientes hipertensas inducidas por L – NAME. **Libro de resúmenes del Primer Congreso Internacional Fito 2000**. Lima Perú. 2000.
7. Cotillo Z. P; Rojas R L. **Métodos Farmacológicos en la investigación de productos naturales**. CONCYTEC. Perú. 1990.
8. CYTED. **Manual de técnicas de investigación**. 1995.
9. Day A. Robert. **Cómo escribir y publicar trabajos científicos**. Publicación científica N° 558. Organización Panamericana de la Salud. 1996.
10. Delgado S. P; Velázquez C. J. Determinación del efecto de *Apium graveolens* (apio) sobre las convulsiones experimentales en ratas. **Libro de resúmenes I Congreso Científico de Estudiantes de Farmacia y Bioquímica**. Trujillo. Perú. 1989.
11. Duarte J; Pérez-Vizcaíno F; Torres A.I; Zarzuelo A; Jiménez J; Tamargo J. Vasodilatador effects de visnagin in isolated rat vascular smooth muscle. **European Journal of Pharmacology**. 1995.
12. E & S. Livingtone LTD. **Pharmacological experiments on intact preparations**. University of Edimburgo. 1970.

13. Farnsworth, O. Akerele, A. Bingel, D. Soejarto y Z. Guo. Las plantas medicinales en la terapéutica. **Boletín de la Oficina Panamericana de la Salud**. 107(4). Pag. 314-327. 1989.
14. Ganong W. **Fisiología médica**. 16° Edición. Manual Moderno. Mexico 1998.
15. Guerra P.C.F. **Métodos de Farmacología Experimental**. Primera Edición. "U.T.E.H.A.". Mexico.1946
16. Goodman y Gilman. **Las bases farmacológicas de la terapéutica**. 9° Edición. McGraw-Hill Interamericana. 1996.
17. Guyton – Hall. **Tratado de fisiología médica**. Ed. Interamericana. 9° Ed. Mexico. 1998.
18. Hu G. L. Estrategias en la Investigación de Plantas Medicinales. **Revista Biota** Vol.XIII. N° 93 Pag. 44-49. Enero-Febrero. Perú. 1987.
19. Kanashiro H. C. Acción del etanol sobre la presión arterial del perro reserpinizado. Tesis de Bachiller. Facultad de Farmacia y Bioquímica. U.N.M.S.M. Lima. Perú. 1968
20. Kar A, Jain S. Investigations on the antibacterial activity of some Indian indigenous aromatic plants. **Flavour Ind.** 2 (feb); 111-113. 1971.
21. Ko F. N, Huang T. F., Teng C. M. Vasodilatory action mechanisms of apigenin isolated from *Apium graveolens* in rat thoracic aorta. **Acta Biophysic and Biochim.** Nov. 14; 1115(1): 69-74. 1991.
22. Lapa José A. **Métodos farmacológicos para la validación de plantas medicinales**. RIVAPLAMED. 1994.
23. Limpinuntana C., Chari Arj. P. Hypotensive effect of the *Apium graveolens* Linn. **Mahidol University Journal of Pharmaceutical Sciences**. 4 (jan-mar); 10-13. 1977
24. Lock de U. Olga. **Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos Naturales**. Pontificia Universidad Católica del Perú. Fondo Editorial. 1994.
25. Lorenzo F. P. Acción hipotensora del extracto de *Solanum melogena* L. **Archivos del Instituto de Farmacología experimental**. Vol. XVI - Fascículo I. Pag. 27-33. 1964.
26. Malacaray H. **Bases para la investigación biomédica**. Distribuidora y editorial Mexicana. Mexico D.F. Pag 87 –88. 1987

27. Ministerio de Salud. **Control de calidad de medicamentos herbales y similares.** Seminario Taller. Lima. Perú. 1996.
28. Midzuaray M A. **MANUAL DE TERAPÉUTICA MÉDICA para prescriptores del Primer Nivel de Atención.** Servicios de Medicinas Pro - Vida 1998.
29. Muhaned K. Al Hindawi; Ihsan HS. Al-deen; May Naby and Mudafar A. Ismail. Actividad antiinflamatoria de algunas plantas Iraqui en ratas intactas. **Journal of Ethnofarmacology.** Vol. 26. Pag. 163 – 168. 1989.
30. Naramharao B., Subbarao P. Efficacy of some essential oils on pathogenic fungi. II. **Flavour Ind.** 3(jul); 368-373. 1972.
31. Novoa B., Céspedes A., García L., Olarte J., Quercetrina: Un flavonoide con actividad hipotensora obtenido del Croton glabellus. **Rev. Colombiana de Ciencias Químico Farmacéuticas.** Vol.4. Nº 2. Pag. 7-13. Junio 1-6. 1995.
32. Paredes A., Luque S., Olarte J., Calle J., Caracterización de la fracción responsable del efecto hipotensor del Croton glabellus. **Rev. Colombiana de Ciencias Químico Farmacéuticas.** Vol.4. Nº 2. Pag. 1-6. Junio 1-6. 1995.
33. Page y col. **Farmacología Integrada.** 1º Edición. Harcourt. Brace. España 1998
34. Portugal Rivera.M y Col, Acción vasodilatadora de la fracción acuosa del perejil (*Petroselinum sativum*) a través de receptores M₃ muscarínicos por estimulación de la óxido nítrico sintetasa. **Libro de resúmenes del Primer Congreso Internacional Fito 2000.** Lima Perú. 2000.
35. Rang H.P; Dale M. M.. **Pharmacology.** 2º Edición. Churchill Livingstone. Londres. 1991.
36. Rodrigues H. L. Plantas medicinales de Huacho, su screening fitoquímico y su aplicación en la medicina popular. Tesis para optar el Título de Químico Farmacéutico. Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM. 1987.
37. Rothlin R. P; Tessler J; Zieher L. M. **Farmacología.** 1º Edición. Vol. I. Gráfica JORDA. Argentina. 1995.
38. Singh A., Handa SS. Hepatoprotective activity of Apium graveolens and Hygrophila auriculata against paracetamol and thioacetamide intoxication in rats. **Journal of Ethnopharmacology.** Dec. 15; 49(3):119-126. 1995.
39. Sintés Prost. J. **Botánica Médica. Virtudes curativas del apio y perejil.** 2º edición

Editorial Sintesis. S.A. Barcelona. 1989.

40. Sosa Rosado J.M. Programa Nacional de Hipertensión Arterial en IPSS. **Revista de la Sociedad Peruana de Hipertensión arterial**. Vol. 1. N° 3. Set. 1995
41. Stirling B., Cottier S. Nutritional herbs-new pharmacognosy? **New Zealand Farmacy**. 14 (feb); 30-32. 1994.
42. Treguerres J.A. **Fisiología Humana**. 2° Edición. McGraw – Hill – Interamericana. España. 1999.
43. Torres y col. Estudio preliminar del efecto hipotensor de *Apium graveolens*, *Uncaria tomentosa* y *Huamapinta chuquiraja*. VII Congreso Peruano de Farmacia y Bioquímica. 13 – 18 Nov. 1995. Lima. Perú.
44. Turpo S. J. Estudio químico bromatológico del Apio (*Apium graveolens* L) liofilizado y fresco. Tesis de aptitud profesional para optar el título de Químico Farmacéutico. U.N.M.S.M. 1986.
45. Tsi D., Das N.P., Tan B.K. Effect of aqueous celery (*Apium graveolens*) extract on lipid parameters of rats fed a high fat diet. **Planta Médica**. Feb; 61(1):18-21. 1995
46. Universidad de Lima. **Catálogo de plantas medicinales**. Facultad de Ingeniería Industrial. Lima. 1994.
47. Van Dongen , Remie, Rensema and Van Wunnick. **Manual of Microsurgery on the Laboratory Rat. Part I**. Elsevier Science Publishers B.V. 1990.
48. Verghese J. In the Kaleidoscope: celery. **Perfumer and flavorist**. 15(may-jun):55-59. 1990.
49. Zavaleta Alfonso et al. 1989. **Estudio farmacológico del veneno de Lachesis muta muta. "Shushupe"**. Premios 1988. "Carlos Gutierrez Noriega". CONCYTEC.
50. Zheng G, Kenney P., Zhanj J., Lam L. Chemoprevention of benzo[a]pyrene-induced forestomach cancer in mice by natural phtalides from celery seed oil. **Nutri. Cancer**. 19(1):77-86. 1993.
51. <http://www.purplesys.es/fitoterapia/plmd/apio.htm.plantasmedicinales>.

Anexos



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
MUSEO DE HISTORIA NATURAL

C O N S T A N C I A

LA DIRECTORA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MU-
SEO DE HISTORIA NATURAL, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal recibida del Sr. Ernesto Torres
Veliz, ha sido determinada según el Sistema de Clasi-
ficación de Engler & Prantl, modificado por Melchior
en 1964, como sigue:


DIVISION : ANGIOSPERMAE
CLASE : DICOTYLEDONEAE
SUBCLASE : ARCHICHLAMYDEAE
ORDEN : UMBELALES
FAMILIA : APIACEAE
GENERO : Apium
ESPECIE : Apium graveolens L.
N.V.: "APIO"

DETERMINADA POR: Dra. Elida Carrillo F.

Se extiende la presente constancia a solicitud del
interesado, para los fines que estime convenientes.

Lima, 5 de marzo de 1996




Dra. Elida Carrillo Fuentes
DIRECTORA DEL HERBARIO
SAN MARCOS (USM)

**Fluxograma realizado en el estudio experimental del efecto
hipotensor y su posible mecanismo de acción de
*Apium graveolens L***

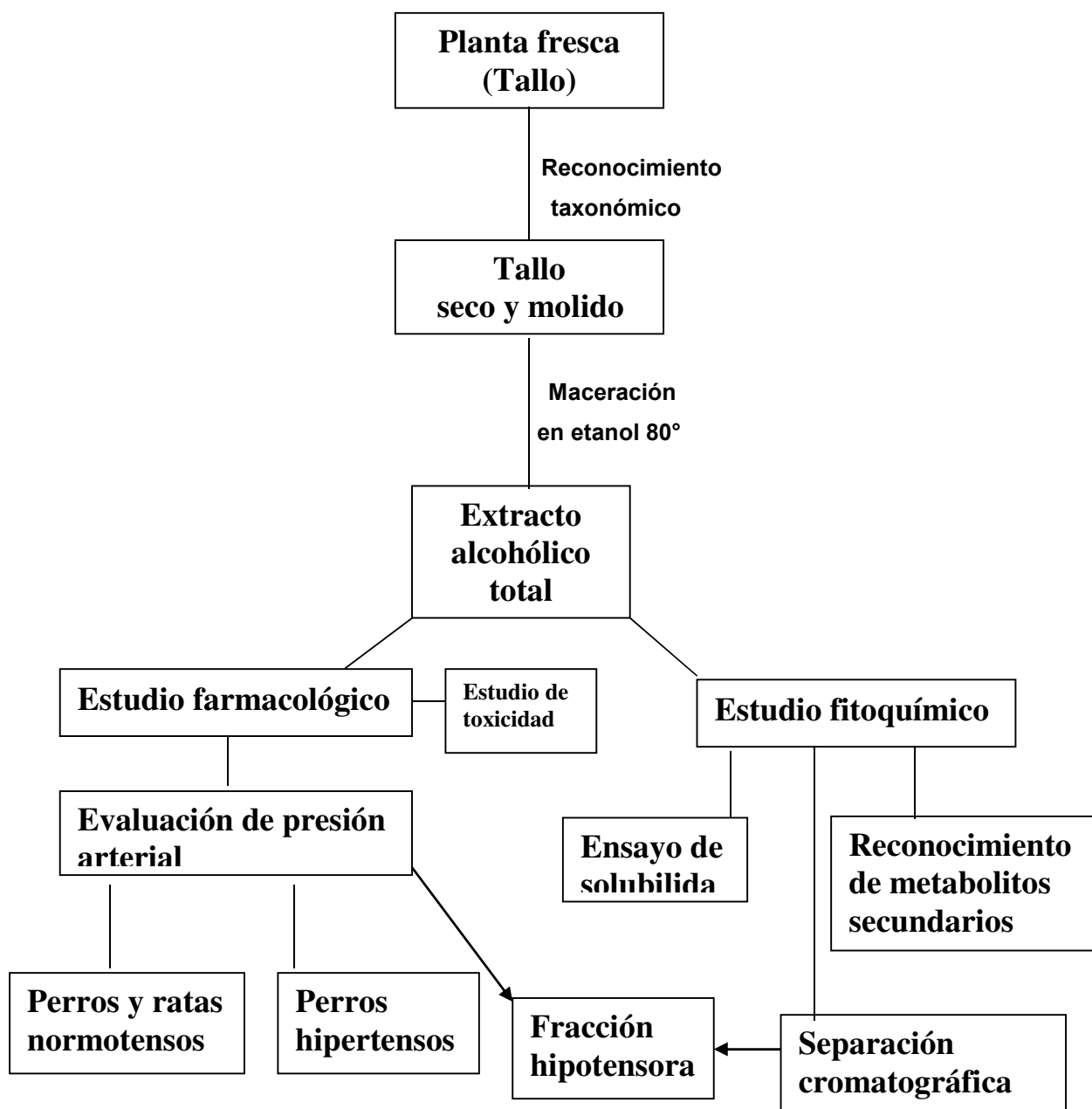


GRAFICO N° 3
EFFECTO DEL EXTRACTO ALCOHOLICO DE DE *Apium graveolens*
SOSERVA QUE BRE LA PRESIÓN ARTERIAL DEL PERRO, A
DIFERENTES DOSIS.

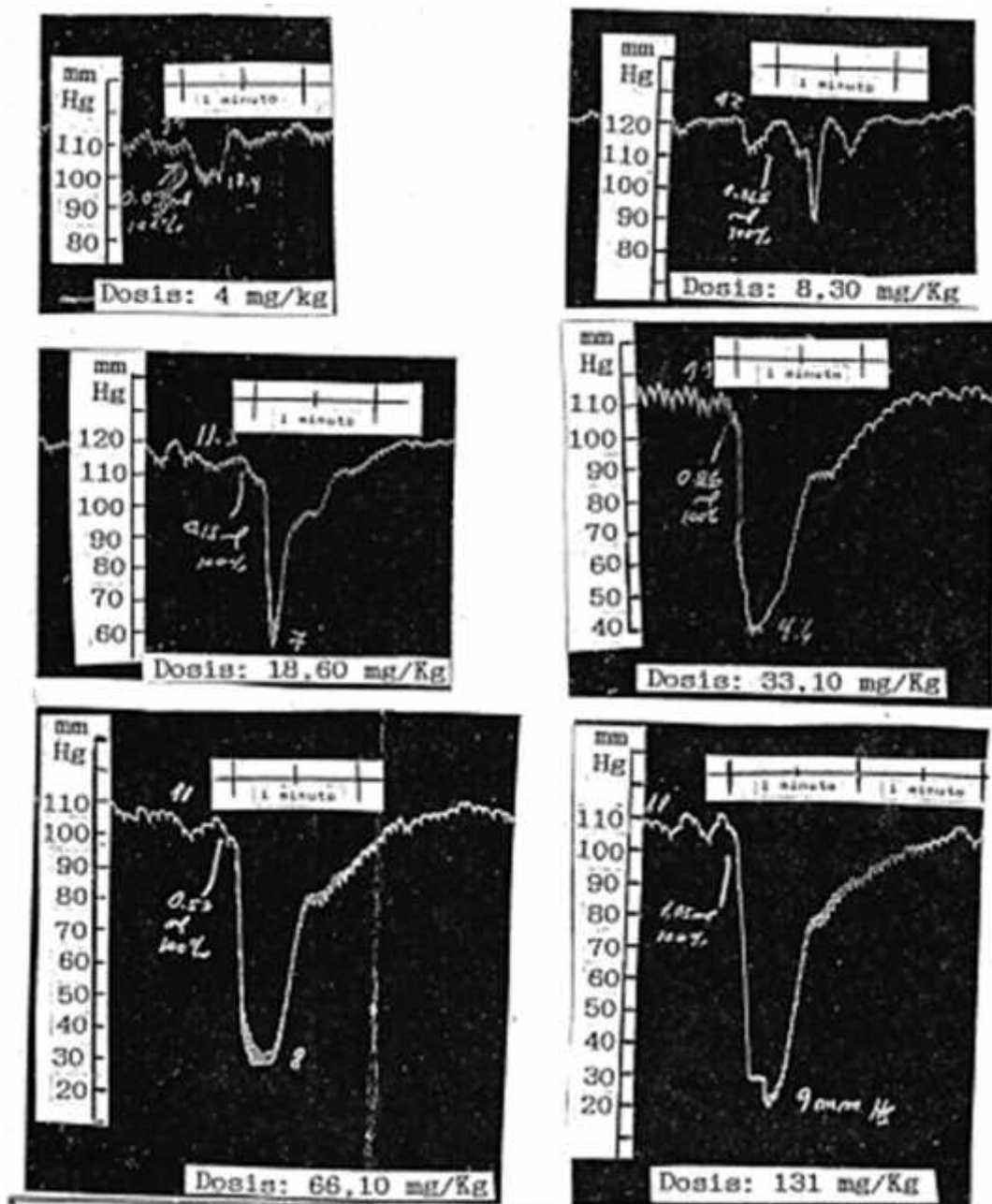


GRAFICO N° 4
COMPRARACIÓN DEL EFECTO HIPOTENSOR PROVOCADO POR LOS
EXTRACTOS DE *Apium graveolens* DE LA COSTA Y LA SIERRA EN
PERROS.

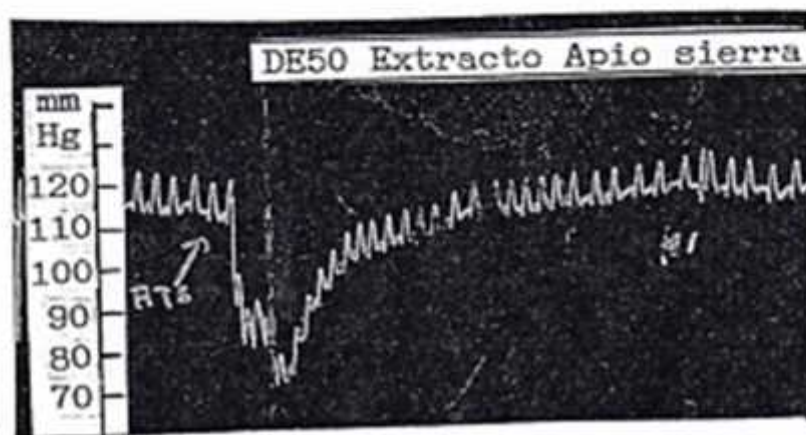
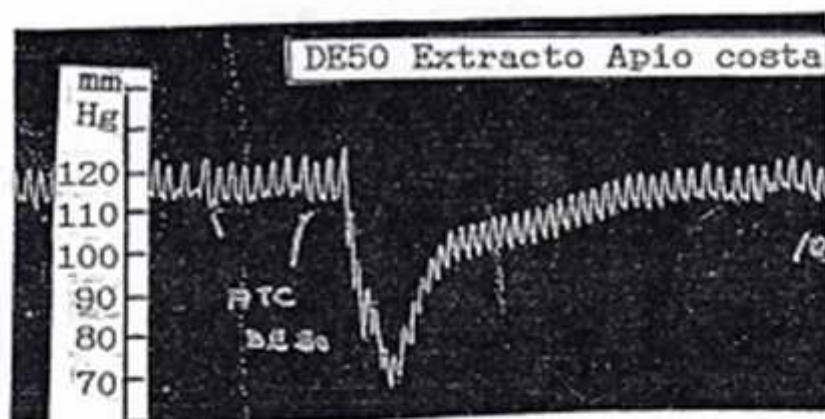
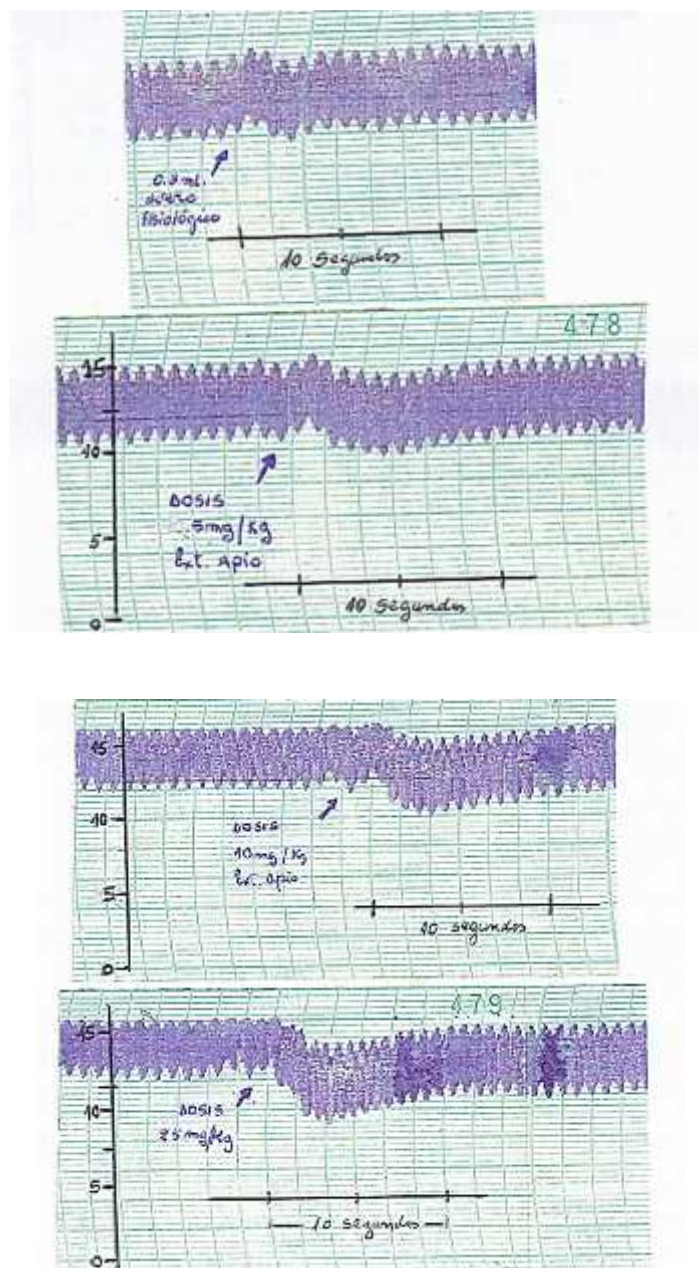


GRAFICO N° 5
EFFECTO HIPOTENSOR DE DIFERENTES DOSIS DEL EXTRACTO DE
Apium graveolens EN RATAS ANESTESIADAS



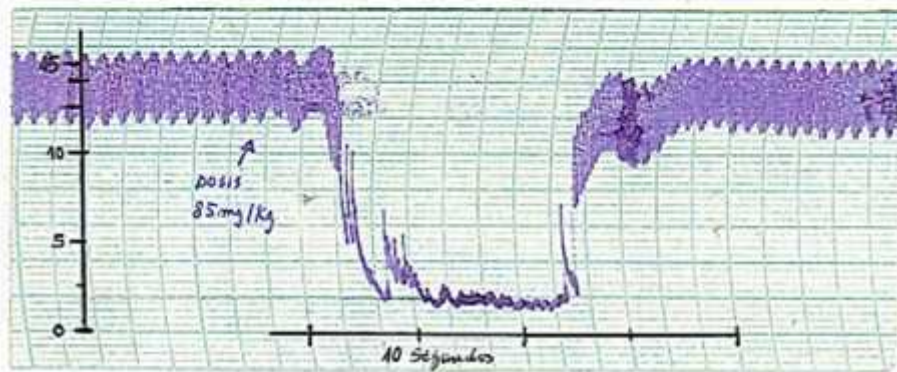
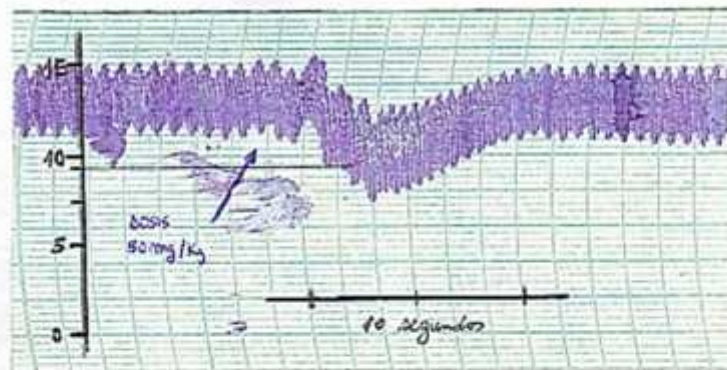


GRAFICO N° 6

**EFFECTO HIPOTENSOR CAUSADO POR UNA SOBREDOSIS (170 mg/Kg)
VIA I.V. DEL EXTRACTO DE *Apium graveolens* EN RATAS**

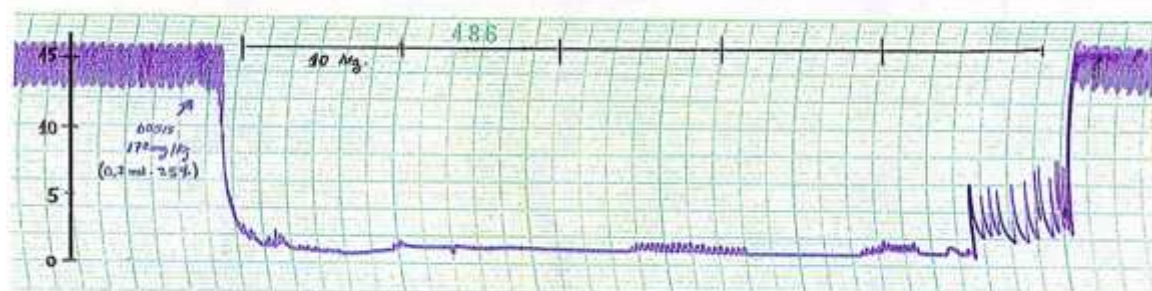


GRAFICO N° 7

COMPARACIÓN DEL EFECTO HIPOTENSOR PROVOCADO POR LOS
EXTRACTOS DE *Apium graveolens* DE LA COSTA Y LA SIERRA EN RATAS.

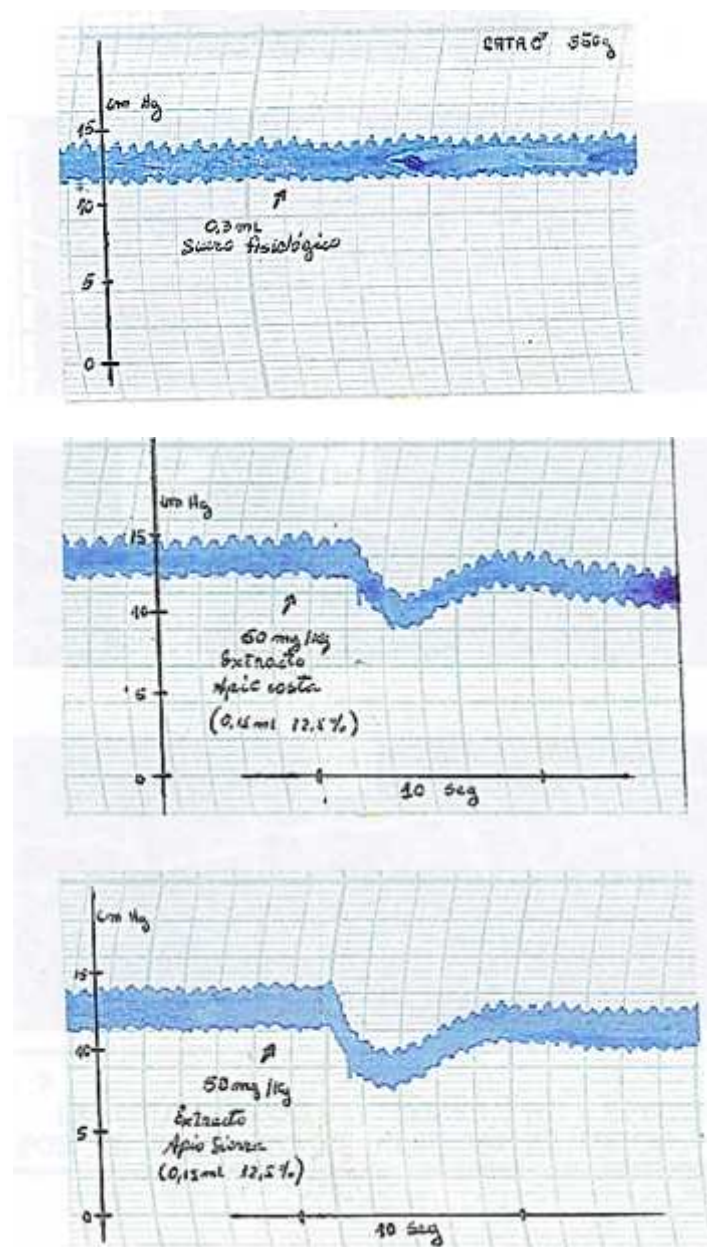


GRAFICO N° 8
EFFECTO DE LA CLORFENAMINA SOBRE EL EFECTO HIPOTENSOR
PRODUCIDO POR EL EXTRACTO DE APIO EN PERROS.

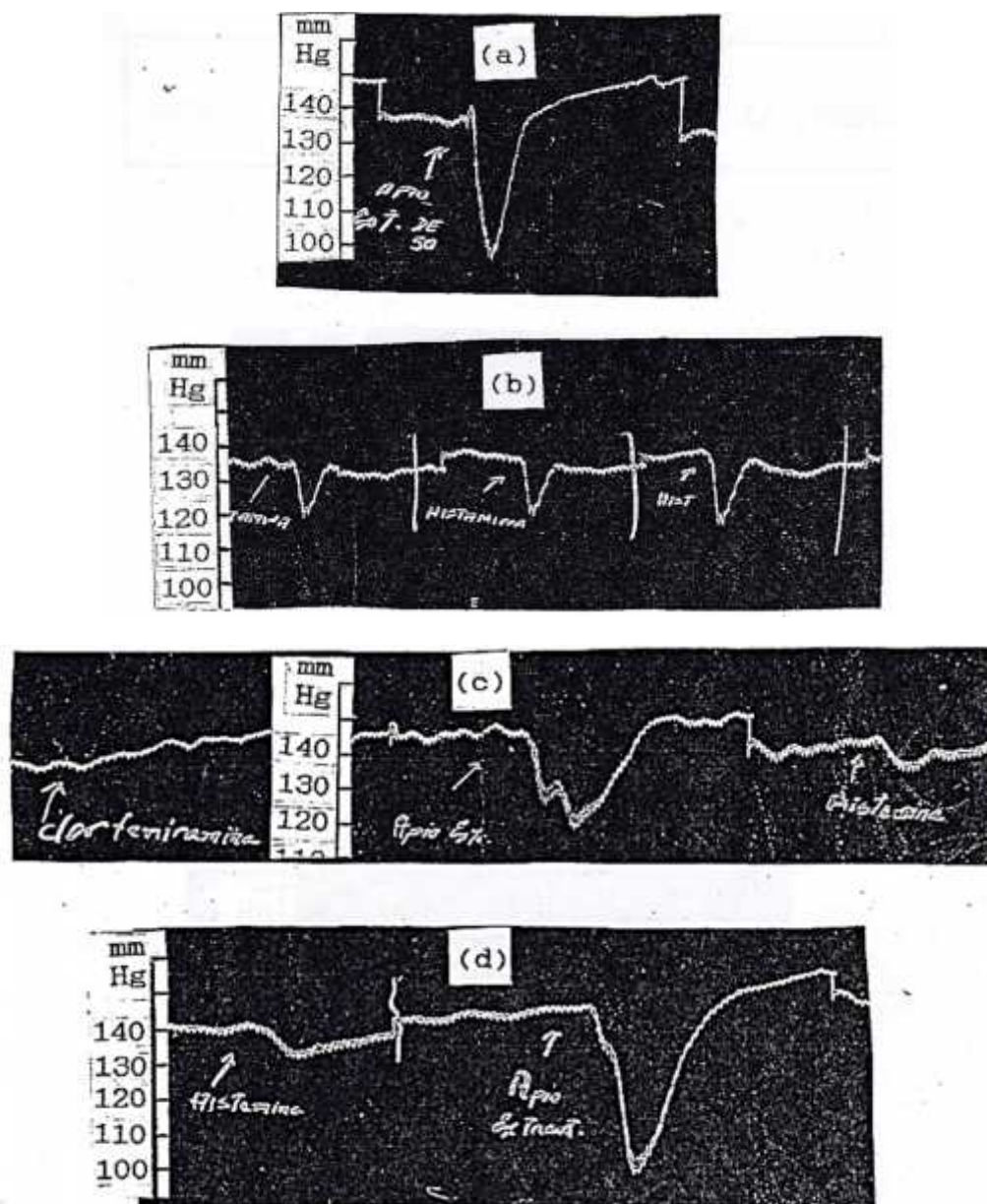


GRAFICO N° 9
EFFECTO DE LOS IONES POTASIO SOBRE LA PRESIÓPON ARTERIAL EN
EL PERRO

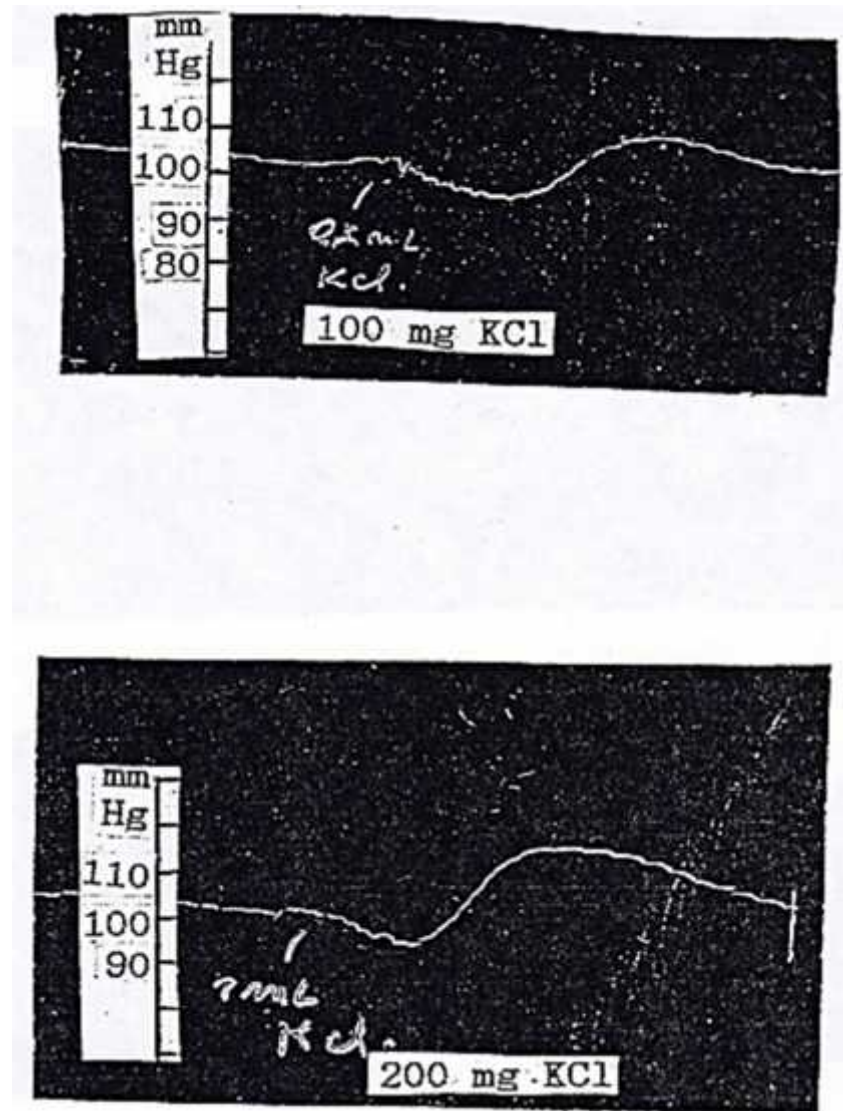


GRAFICO N° 10
EFFECTO DEL EXTRACTO ALCOHOLICO DE APIO SOBRE EL EFFECTO
HIPERTENSOR DE LA ADRNALINA EN EL PERRO

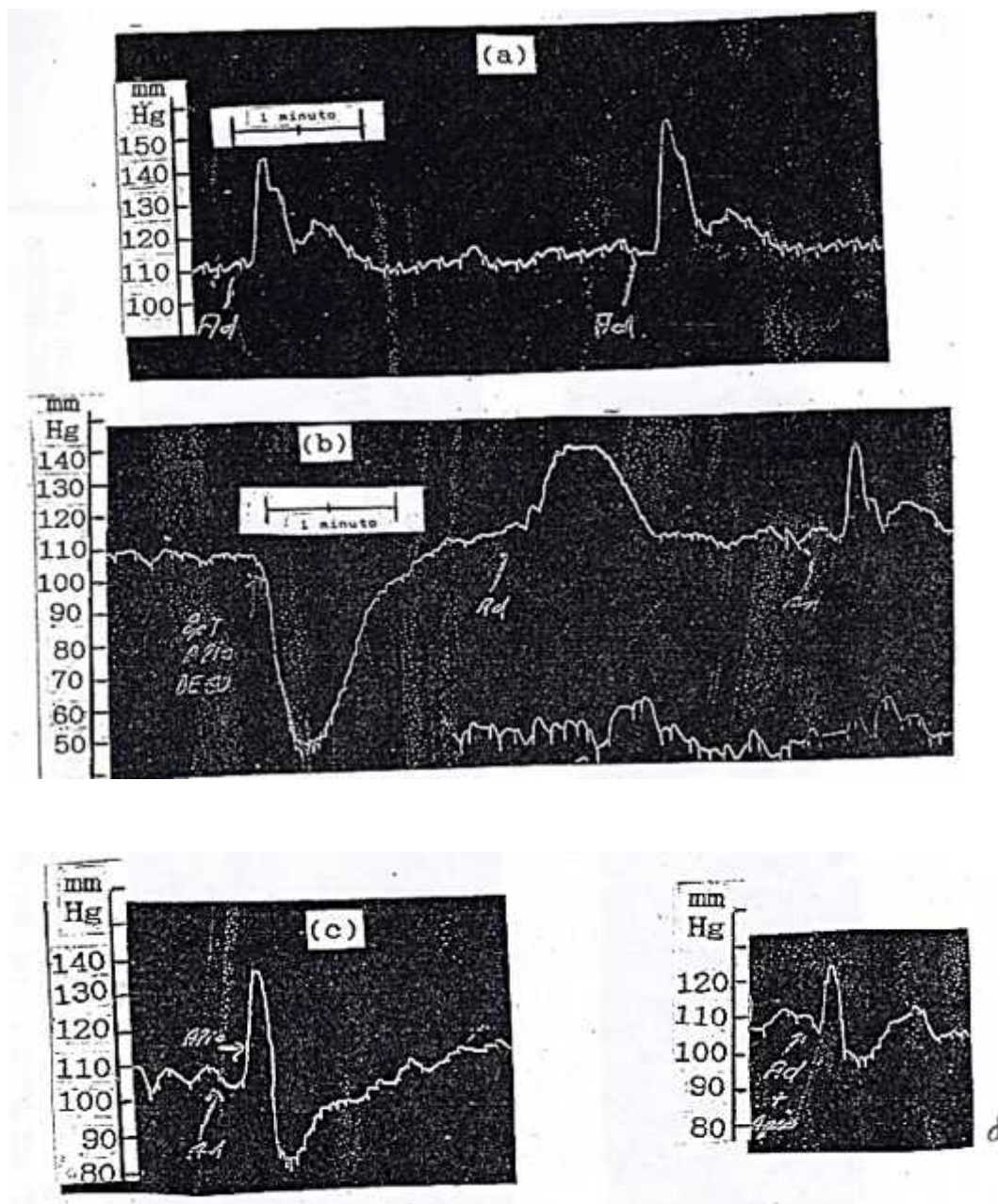


GRAFICO N° 11

EFFECTO DEL EXTRACTO DE *Apium graveolens* SOBRE LA
HIPERTENSIÓN INDUCIDA POR LA ADMINISTRACIÓN EN GOTEO DE
UNA SOLUCIÓN DE ADRENALINA Y ETILEFRINA

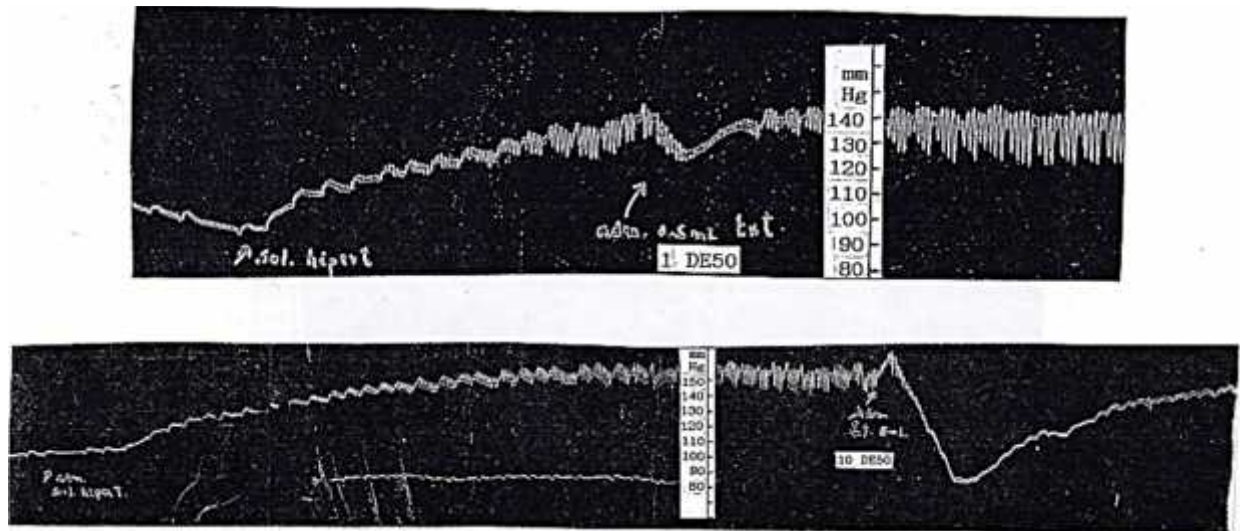


GRAFICO N° 12

EFFECTO DEL BLOQUEADOR COLINÉRGICO ATROPINA SOBRE EL EFECTO HIPOTENSOR DEL EXTRACTO DE *Apium graveolens*, EN EL PERRO. (A) EFECTOS CARACTERÍSTICOS DEL APIO ANTES Y DESPUES. (B) DE LA ADMINISTRACIÓN DE ATROPINA.

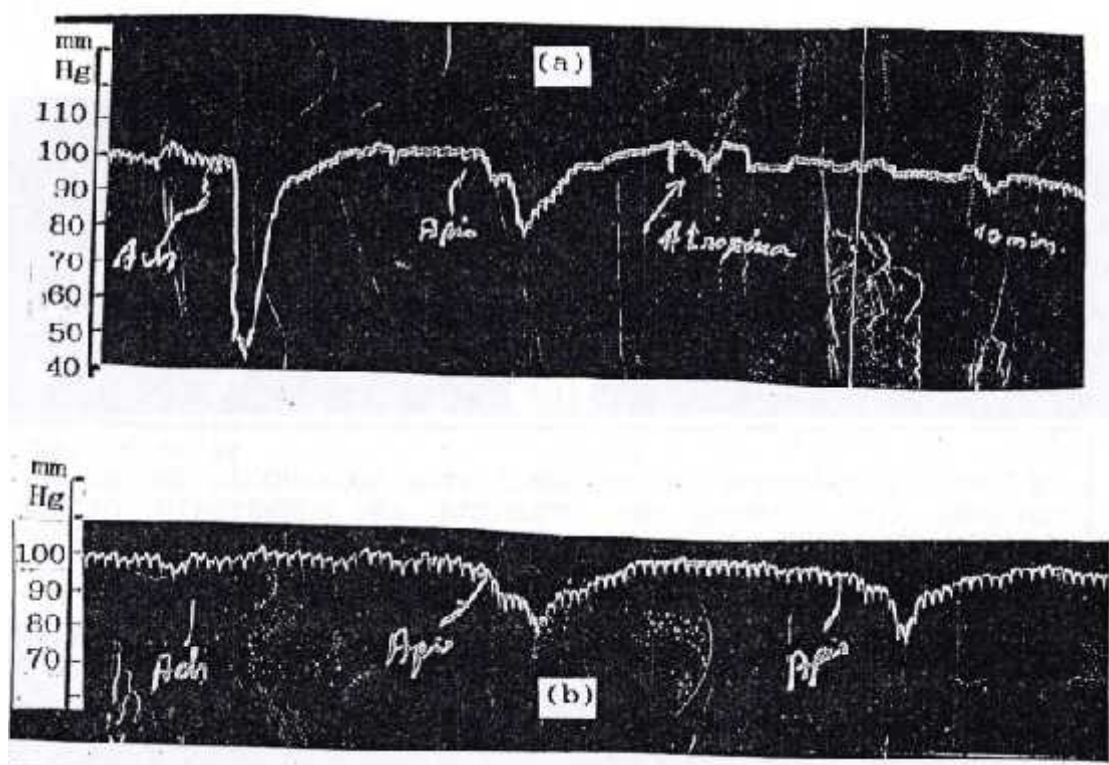


GRAFICO N° 13

EFFECTO DEL BLOQUEADOR BETA ADRENÉRGINICO PROPRANOLOL SOBRE EL EFECTO HIPOTENSOR DEL EXTRACTO DE *Apium graveolens*, EN EL PERRO. (A) EFECTOS CARACTERÍSTICOS DE LA ORCIPRENALINA Y DEL EXTRACTO ANTES Y DESPUES. (B) DE LA ADMINISTRACIÓN DE PROPRANOLOL.

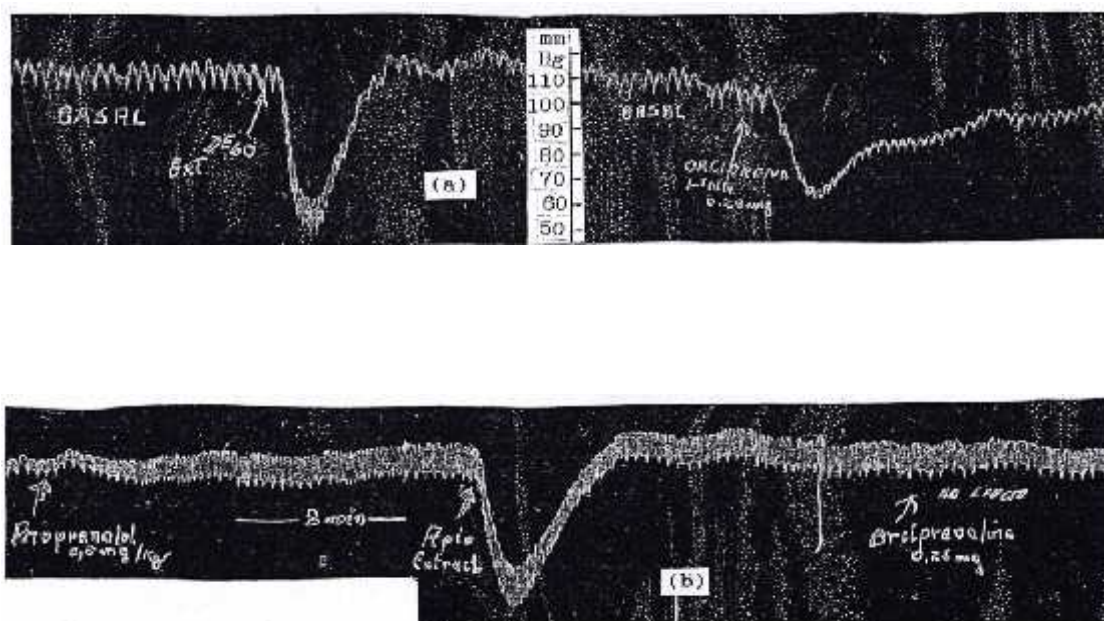
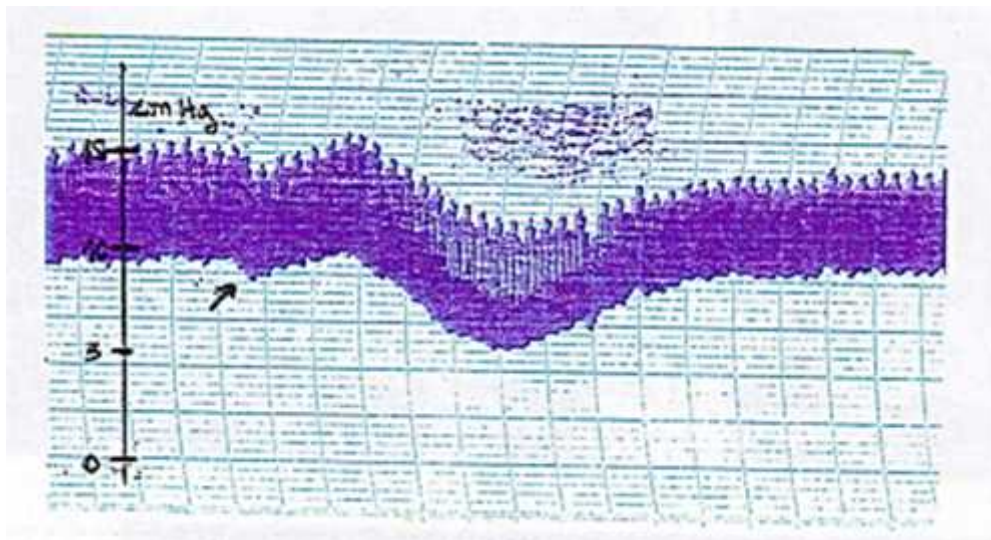


GRAFICO N° 14
EFFECTO HIPOTENSOR DE la FRACCION CORRESPONDIENTE A LOS
FLOVONOIDES DE *Apium graveolens*, AISLADOS POR CROMATOGRAFÍA
EN CAFA FINA



FOTOS DE LA EXPERIMENTACIÓN EN PERROS



FOTOS DE LA EXPERIMENTACIÓN EN RATAS

